

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROSANGELA COLAÇO

**DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM MATRIZES
AQUOSAS POR EFS-CLAE-UV**

CURITIBA

2013

ROSANGELA COLAÇO

**DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM MATRIZES
AQUOSAS POR EFS-CLAE-UV**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração Insumos, Medicamentos e Correlatos, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profª Dra Eliane Carneiro Gomes

Co-orientador: Prof. Dr. Patricio Peralta-Zamora

CURITIBA

2013

Colaço, Rosangela

Determinação de diclofenaco e ibuprofeno em matrizes aquosas por EFS-CLAE-UV / Rosangela Colaço – Curitiba, 2013.

119 f. : il. ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Eliane Carneiro Gomes

Coorientador: Professor Dr. Patrício Peralta-Zamora

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Inclui bibliografia

1. Resíduos de fármacos. 2. Tratamento de esgotos.
3. Extração em fase sólida. 4. Cromatografia em fase líquida de alta eficiência. I. Gomes, Eliane Carneiro. II. Peralta-Zamora, Patrício.
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 615.1

TERMO DE APROVAÇÃO

ROSÂNGELA COLAÇO

Título: DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM MATRIZES AQUOSAS, POR EFS-CLAE-UV

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos.


Prof.ª. Dra. Eliane Carneiro Gomes
Orientadora


Prof. Dr. Patricio Guillermo Peralta Zamora
Co-orientador


Prof. Dr. Gilberto Abate
Universidade Federal do Paraná


Prof. Dr. Walfrido Kühl Svoboda
Universidade Federal do Paraná.

Curitiba, 1 de março de 2013.

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar, por me guiar em todos os momentos da minha vida.

A minha orientadora, Prof^a. Eliane, pela dedicação, carinho e paciência, e principalmente pela confiança no meu trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Patricio, que mesmo com tantas atividades aceitou me orientar com muita dedicação, cordialidade e competência.

Ao meu amigo Marcus Vinícius, que muito mais que um colaborador, foi também um dos orientadores deste trabalho.

Aos professores e amigos do grupo de Saúde Ambiental e Saúde Pública, pelos conselhos e apoio.

A todos os amigos do Grupo Tecnotrater, pelas conversas, pelos cafés, pela camaradagem, e principalmente pela disposição de todos em ajudar. Com certeza esta é uma marca registrada deste grupo.

Aos Profs. Gilberto Abate e Walfrido Kühl Svoboda, por aceitarem participar da banca de defesa e pela valiosa contribuição neste trabalho.

A Companhia de Saneamento do Paraná, pela disponibilidade de informações, e a todos os funcionários pela ajuda na coleta das amostras.

Ao financiamento concedido pela bolsa CAPES/REUNI, ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas e aos coordenadores do curso, que não medem esforços para que estas bolsas sejam direcionadas aos alunos.

Ao Programa de Pós Graduação em Química, pela disponibilização de materiais e laboratórios.

A minha querida irmã Rosana, que é meu orgulho e meu exemplo... Obrigada pelo apoio, incentivo, e por fazer parte da minha vida.

Aos meus pais, Nelson e Luiza, pelo apoio incondicional, por sempre me incentivarem e estarem comigo em todos os momentos.

Ao meu filho João, simplesmente um presente de Deus em minha vida.

Ao meu esposo Ricardo, pelo positivismo, companheirismo, por sempre acreditar em mim, por sempre tornar a vida mais leve, enfim... por tudo! Amo muito você!

Obrigada!

RESUMO

Os resíduos de fármacos em matrizes aquosas se tornaram foco de elevado interesse científico. A principal fonte de preocupação relacionada com a presença destes compostos em compartimentos ambientais reside no fato destas substâncias apresentarem potencial para causar efeitos tóxicos nos organismos mesmo em concentrações muito baixas, da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} . Neste trabalho avaliou-se a presença de diclofenaco e ibuprofeno em diferentes matrizes aquosas, com ênfase em amostras de esgoto de Estações de Tratamento (ETEs) da cidade de Curitiba-PR, no período de julho a novembro de 2012. Estes anti-inflamatórios foram escolhidos por serem fármacos de elevado consumo, por antecedentes da literatura indicarem efeitos tóxicos na biota e pelo desconhecimento do perfil de remoção e ocorrência nos esgotos, em rios e na água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento da cidade. O método utilizado para limpeza (*clean up*) das amostras foi a extração em fase sólida (EFS), e a separação dos compostos foi realizada por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE), assistida por detector por arranjo de diodos (DAD). A validação do método analítico foi realizada a partir de parâmetros determinados pela ANVISA, INMETRO, IUPAC, EURACHEM e por trabalhos que abordam a validação de métodos analíticos. A determinação dos fármacos nas amostras de esgotos e no rio a jusante da ETE se mostrou extremamente complexa, principalmente em razão de um forte efeito de matriz associado à presença de espécies que não são eliminadas na etapa de limpeza e que absorvem fortemente na região ultravioleta. Embora nestas condições a determinação de ibuprofeno não tenha sido possível, o diclofenaco foi detectado em todas as amostras de esgoto analisadas (bruto e tratado), o que confirma a baixa eficiência de remoção dos sistemas convencionais de tratamento, aeróbios e anaeróbios. Adicionalmente, nenhum dos dois fármacos foi detectado em amostras de água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento de água e na água de rio a montante da ETE.

Palavras-chave: resíduos de fármacos, tratamento de esgotos, extração em fase sólida, cromatografia em fase líquida de alta eficiência.

ABSTRACT

Drug residues in aqueous matrices have become the focus of high scientific interest. The main source of concern related to the presence of these compounds in environmental residues is the fact that these substances have a potential to cause toxic effects in organisms even at very low concentrations, of the order of mg L^{-1} and ng L^{-1} . In this study it was evaluated the presence of ibuprofen and diclofenac in different aqueous matrices, with emphasis on samples from sewage treatment plants (STPs) in the city of Curitiba-PR, from July to November 2012. These anti-inflammatory drugs were chosen because they are of high consumption; by background literature indicate toxic effects on biota and the lack of profile in sewage removal and occurrence in rivers and drinking water supply system provided by the city. The method used for clean up the samples was solid phase extraction (SPE), whereas the separation of compounds was performed by high performance liquid chromatography (HPLC), assisted by diode array detector (DAD). The analytical method validation was performed based on parameters determined by ANVISA, INMETRO, IUPAC, EURACHEM and studies concerning the validation of analytical methods. The determination of drugs in samples of sewage and river downstream from the STP was extremely complex, mainly due to a strong matrix effect associated with the presence of species that are not eliminated in step cleaning and absorbing strongly in the ultraviolet region. Although determining these conditions has not been possible ibuprofen, diclofenac was detected in all samples analyzed wastewater (treated and raw), which confirms the low removal efficiency of conventional treatment systems, aerobes and anaerobes. Additionally, none of the two drugs was detected in drinking water provided by the water supply system and the water in the river upstream of the STP.

Keywords: drug residues, sewage treatment, solid phase extraction, high performance liquid chromatography.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA MOLECULAR DO DICLOFENACO	22
FIGURA 2 - ESTRUTURA MOLECULAR DO IBUPROFENO.....	24
FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA DE TRATAMENTO DE ESGOTO FUNDAMENTADO EM REATORES DO TIPO REATOR ANAERÓBIO DE LODO FLUIDIZADO, EMPREGADO NAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO A E C.....	57
FIGURA 4 - VISTA GERAL DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A.....	57
FIGURA 5 - PONTOS DE COLETA A MONTANTE (A) E JUSANTE (B) DO CORPO HÍDRICO QUE RECEBE O ESGOTO TRATADO DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A	58
FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE TRATAMENTO POR LODOS ATIVADOS.....	59
FIGURA 7 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO AFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A.....	60
FIGURA 8 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO AFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS B.....	60
FIGURA 9 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO AFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS C	61
FIGURA 10 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO EFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A.....	61
FIGURA 11 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO EFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS C	62
FIGURA 12 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO EFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS B.....	62
FIGURA 13 - ETAPAS PARA O PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	65
FIGURA 14 - SISTEMA DE MANIFOLD UTILIZADO PARA EXTRAÇÃO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO	66
FIGURA 15 – NITROGÊNIO GASOSO UTILIZADO PARA SECAGEM DO CARTUCHO.....	67
FIGURA 16- SISTEMA DE MANIFOLD UTILIZADO PARA ELUIÇÃO DOS ANALITOS.....	67
FIGURA 17 - NITROGÊNIO GASOSO PARA SECAGEM DOS ELUATOS	68
FIGURA 18 - CROMATOGRAMA DO DICLOFENACO E O DO IBUPROFENO NA CONCENTRAÇÃO DE 1mg L^{-1} COM MÉTODO CROMATOGRÁFICO 1	81
FIGURA 19 - MÉTODO CROMATOGRÁFICO 2 - EMPREGADO NA DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS EM AMOSTRAS REAIS.....	82
FIGURA 20 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO NA CONCENTRAÇÃO DE 1mg L^{-1} COM O MÉTODO CROMATOGRÁFICO 2.....	83
FIGURA 21 - CURVAS ANALÍTICAS DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO, COM CONCENTRAÇÃO ATÉ $1,25\text{ mg L}^{-1}$	84
FIGURA 22 - CURVAS ANALÍTICAS DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO, COM CONCENTRAÇÃO ATÉ $7,00\text{ mg L}^{-1}$	85

FIGURA 23 - PRECISÃO NA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO NAS CONCENTRAÇÕES DE 1,250 mg/L E 0,300 mg/L, AVALIADA MEDIANTE OS COEFICIENTES DE VARIAÇÃO PARA REPETIBILIDADE E PRECISÃO INTERMEDIÁRIA.....	88
FIGURA 24 - CROMATOGRAMAS DE AMOSTRAS DE ESGOTO AFLUENTE NATURAL E FORTIFICADO COM 0,3 µg L ⁻¹	95
FIGURA 25 - CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ESGOTO AFLUENTE OBTIDO COM O MÉTODO CROMATOGRÁFICO DE 15 min	99
FIGURA 26 - CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ESGOTO EFLUENTE QUE DEMONSTRA A INTERFERÊNCIA NO TEMPO DE RETENÇÃO PRÓXIMO AO DO IBUPROFENO.....	100
FIGURA 27 - CROMATOGRAMA DO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A.	104

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CONSUMO ANUAL DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM DIFERENTES PAÍSES.....	20
TABELA 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO DICLOFENACO	22
TABELA 3 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO IBUPROFENO	24
TABELA 4 - NÚMERO DE CAMPANHAS AMOSTRAIS, VOLUME PERCOLADO DE AMOSTRA E NÚMERO DE AMOSTRAS POR CAMPANHA NOS PONTOS DE COLETA E MATRIZES AQUOSAS PARA A DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO	63
TABELA 5 - CARTUCHOS PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA AVALIADOS	73
TABELA 6 - ESPECIFICAÇÕES DOS CARTUCHOS BOND ELUT [®] EMPREGADOS	73
TABELA 7 - ESPECIFICAÇÕES DOS CARTUCHOS STRATA X [®] EMPREGADOS	74
TABELA 8 - ESPECIFICAÇÕES DOS CARTUCHOS OASIS HLB [®] EMPREGADOS	74
TABELA 9 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH NA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DOS CARTUCHOS BOND ELUT [®] E STRATA X [®]	76
TABELA 10 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO COM DIFERENTES VOLUMES DE AMOSTRAS	76
TABELA 11 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO COM DIFERENTES VOLUMES DE RECONSTITUINTE.....	77
TABELA 12 - CAPACIDADE DE PERCOLAÇÃO DE ESGOTO AFLUENTE DOS CARTUCHOS PARA EFS.....	90
TABELA 13 - RECUPERAÇÕES DOS CARTUCHOS BOND ELUT [®] E STRATA X [®] EM DIFERENTES VALORES DE pH.....	91
TABELA 14: RECUPERAÇÕES DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO EM DIFERENTES VOLUMES DE ÁGUA ULTRAPURA	92
TABELA 15: RECUPERAÇÕES DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO COM DIFERENTES VOLUMES DE AMOSTRA E DE RECONSTITUINTE.....	93
TABELA 16 - RECUPERAÇÕES OBTIDAS NA AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS.....	93
TABELA 17 - AVALIAÇÃO DO VOLUME DE QUEBRA PARA OS CARTUCHOS BOND ELUT [®] EM ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO FORNECIDA PELO SISTEMA DE ABASTECIMENTO.....	94
TABELA 18: RECUPERAÇÃO DE DICLOFENACO A PARTIR DE AMOSTRAS DE ESGOTO AFLUENTE E EFLUENTE POR INTERPOLAÇÃO DIRETA NA CURVA ANALÍTICA E PELO SISTEMA DE ADIÇÃO DE PADRÃO.....	96
TABELA 19 - VALORES DAS CONCENTRAÇÕES OBTIDAS PARA O DICLOFENACO EM AMOSTRAS DE ESGOTO AFLUENTE E EFLUENTE, NAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A, B E C.....	101
TABELA 20 - RELAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO AFLUENTE / EFLUENTE PARA O DICLOFENACO PARA AS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A, B E C, NAS CAMPANHAS AMOSTRAIS 1 E 2.....	102

TABELA 21 - CONCENTRAÇÕES DE DICLOFENACO NO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A	105
TABELA 22 - REDUÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE DICLOFENACO NO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA.....	105
TABELA 23 - CONCENTRAÇÃO DE DICLOFENACO NAS AMOSTRAS DE ÁGUA DE RIO A JUSANTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A.....	107

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ACN - Acetonitrila

AINE - Anti-inflamatório Não Esteroidal

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CLAE - Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

COX - Enzima Araquidonato Ciclo-oxigenase

CV - Coeficiente de variação

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

EFS - Extração em Fase Sólida

ETA - Estação de Tratamento de Água

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

K_{OW} - Octanol-Water Partition Coefficient Coeficiente de Partição Octanol-água

NBR - Norma Brasileira

RALF - Reator Anaeróbio de Lodo Fluidizado

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

RSS - Resíduos de Serviços de Saúde

TEA - Trietilamina

UV - Radiação ultravioleta

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	9
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 OBJETIVO GERAL	17
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 MEDICAMENTOS – IMPORTÂNCIA E CONSUMO	18
2.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINEs)	19
2.2.1 MECANISMO DE AÇÃO DOS AINEs	21
2.2.2 DICLOFENACO	22
2.2.3 IBUPROFENO	24
2.3 FONTES DE RESÍDUOS FARMACOLÓGICOS NO AMBIENTE	25
2.3.1 RESÍDUOS FARMACOLÓGICOS NOS ESGOTOS DOMÉSTICOS	26
2.3.2 MEDICAMENTOS DE USO VETERINÁRIO	28
2.3.3 DESCARTE INADEQUADO DE MEDICAMENTOS	28
2.3.4 RESÍDUOS DAS INDÚSTRIAS FARMACÊUTICAS	30
2.4 ESGOTOS: CARACTERÍSTICAS	31
2.4.1 ESGOTOS: COBERTURA E IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO	31
2.4.2 ESGOTOS: TRATAMENTO CONVENCIONAL	33
2.4.2.1 TRATAMENTO PRELIMINAR DE ESGOTOS	34
2.4.2.2 TRATAMENTO PRIMÁRIO DE ESGOTOS	34
2.4.2.3 TRATAMENTO SECUNDÁRIO DE ESGOTOS	35
2.4.2.4 SISTEMA DE LODOS ATIVADOS	37
2.4.2.5 REATORES ANAERÓBIOS	38
2.4.3 TRATAMENTO TERCIÁRIO DE ESGOTOS	39
2.4.4 TRATAMENTO DE ESGOTOS EM CURITIBA-PR	40
2.4.5 REAPROVEITAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS	40
2.5 REMOÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM ETEs	41
2.6 EFEITOS TÓXICOS DE FÁRMACOS NO AMBIENTE	43
2.7 MÉTODO DE EXTRAÇÃO E TÉCNICA ANALÍTICA EMPREGADA NA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM MATRIZES AQUOSAS	46
2.7.1 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	47
2.7.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	48
2.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS	49
2.8.1 SELETIVIDADE	50
2.8.2 LINEARIDADE E FAIXA DE TRABALHO	51
2.8.3 PRECISÃO	52
2.8.4 EXATIDÃO	52
2.8.5 LIMITE DE DETECÇÃO (LD)	53
2.8.6 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)	54
2.8.7 ROBUSTEZ	55
3 MATERIAIS E MÉTODOS	56
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO	56
3.2 AMOSTRAGEM	63
3.2.1 CUIDADOS PRÉVIOS À COLETA	64

3.3	PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	64
3.4	MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO.....	69
3.5	VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO E DE EXTRAÇÃO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO.....	69
3.5.1	LINEARIDADE.....	70
3.5.2	LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO (LD)	71
3.5.3	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO (LQ).....	71
3.5.4	PRECISÃO	71
3.6	VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO (EXATIDÃO)	72
3.6.1	FASES ADSORVENTES PARA EXTRAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO.....	72
3.6.2	CAPACIDADE DOS CARTUCHOS PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA ESGOTO AFLUENTE	75
3.6.3	INFLUÊNCIA DO pH.....	75
3.6.4	VOLUMES DE AMOSTRA.....	76
3.6.5	VOLUME DE RECONSTITUINTE.....	76
3.6.6	CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS	77
3.6.7	DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE QUEBRA.....	77
3.6.8	ADIÇÃO DE PADRÃO	78
3.7	OUTRAS AVALIAÇÕES	79
3.7.1	ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO	79
3.7.2	ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS DE ESGOTO.....	80
3.7.3	ESTABILIDADE DOS EXTRATOS DAS AMOSTRAS DE ESGOTOS.....	80
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4.1	MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO.....	81
4.2	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO E DE EXTRAÇÃO	83
4.2.1	LINEARIDADE	83
4.2.2	LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO.....	85
4.2.3	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO	86
4.2.4	PRECISÃO.....	87
4.3	VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO.....	89
4.3.1	FASES ADSORVENTES PARA EXTRAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO	89
4.3.2	CAPACIDADE DOS CARTUCHOS PARA ESGOTO AFLUENTE	90
4.3.3	INFLUÊNCIA DO pH.....	91
4.3.4	VOLUMES DE AMOSTRA	92
4.3.5	VOLUME DE RECONSTITUINTE.....	92
4.3.6	CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS	93
4.3.7	DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE QUEBRA.....	94
4.3.8	ADIÇÃO DE PADRÃO	94
4.4	OUTRAS AVALIAÇÕES	97
4.4.1	ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO	97
4.4.2	ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS DE ESGOTO.....	97
4.4.3	ESTABILIDADE DOS EXTRATOS DAS AMOSTRAS DE ESGOTOS.....	98
4.5	DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM AMOSTRAS DE ESGOTOS COLETADAS EM ETEs DA CIDADE DE CURITIBA-PR	99
4.6	DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO NO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA.....	104

4.7 DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM ÁGUA DE RIO	106
4.7.1 AMOSTRAS A MONTANTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A	106
4.7.2 AMOSTRAS A JUSANTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A	107
4.7.3 ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO FORNECIDA PELO SISTEMA DE ABASTECIMENTO DE ÁGUA DE CURITIBA-PR	108
5 CONCLUSÕES	109
REFERÊNCIAS	110

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos são ferramentas essenciais que contribuem para aumentar a expectativa e melhorar a qualidade de vida da população, e sua utilização representa muitas vezes a única estratégia terapêutica para manutenção e recuperação da saúde.

O desenvolvimento de medicamentos para doenças que até então eram consideradas fatais, assim como para as denominadas “doenças da atualidade”, como depressão e hipertensão arterial, e ainda a pressão mercadológica que é exercida sobre os profissionais de saúde fizeram com que a demanda por medicamentos aumentasse intensamente. Desta forma, atualmente a maioria das pessoas utiliza algum tipo de medicamento de forma esporádica ou crônica e toneladas de medicamentos são produzidas todos os anos para aplicação em medicina humana e veterinária.

O Brasil encontra-se entre os maiores consumidores de medicamentos do mundo. A partir de dados obtidos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2012), verificou-se que atualmente no país são comercializados mais de 20 mil medicamentos de diferentes laboratórios, como fármaco isolado ou em associações.

Após a administração de um fármaco, uma parcela significativa do composto original ou na forma de metabólitos é excretada através das fezes ou da urina, e assim estes resíduos atingem as Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs).

O tratamento de esgotos é essencial para proteção da saúde e do equilíbrio ambiental. No entanto, nem todos os fármacos presentes nos esgotos são passíveis de remoção por meio do sistema convencional; estes podem ser lançados nos corpos hídricos, acumular-se no ambiente e ainda causar toxicidade aos organismos, visto que estes produtos são utilizados com o objetivo de causar um efeito biológico.

O tratamento empregado nas Estações de Tratamento de Água (ETAs), também não é capaz de eliminar totalmente diversos fármacos, e ainda existe uma lacuna a respeito do conhecimento dos possíveis efeitos em longo prazo do consumo destes compostos sobre a saúde humana.

Os fármacos em compartimentos ambientais são classificados como micropoluentes: substâncias que mesmo em concentrações ínfimas, da ordem de ng L^{-1} apresentam potencial para causar efeitos tóxicos sobre os sistemas em que estão presentes.

Diversos trabalhos relatam a interferência destes micropoluentes na fisiologia de diferentes formas de vida, desde organismos unicelulares até seres de extrema complexidade. No entanto, os estudos sobre os efeitos destes compostos nos organismos, o possível sinergismo entre as substâncias, sua persistência no ambiente e ainda em que grau estes efeitos ocorrem são recentes. Estes compostos podem ser persistentes e seus efeitos em longo prazo não estão totalmente estabelecidos.

A legislação atual não contempla a detecção e o monitoramento de micropoluentes como os fármacos em águas superficiais, na água potável e nos efluentes dos esgotos, assim não existem limites estabelecidos para estes compostos no meio ambiente.

O diclofenaco e o ibuprofeno estão entre os fármacos mais consumidos da classe dos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), com ampla prescrição por médicos e dentistas.

Dados disponíveis na literatura indicam que o tratamento convencional de esgotos não é capaz de remover completamente o diclofenaco e o ibuprofeno, e assim estes fármacos podem vir a contaminar o ambiente.

Desta forma a realização deste trabalho visa a determinação de resíduos de diclofenaco e ibuprofeno em diferentes matrizes aquosas, que podem ser nocivos ao ambiente e requerem atenção especial na avaliação de sua ecotoxicidade.

1.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a presença de resíduos de diclofenaco e ibuprofeno nas seguintes matrizes aquosas: água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento, em água de rio que recebe efluentes de uma ETE (a montante e a jusante do lançamento), na água recuperada pelo processo empregado em uma das ETEs de estudo, e ênfase no esgoto bruto e tratado de ETEs de Curitiba-PR.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Validar os parâmetros de linearidade, limite de quantificação (LQ), limite de detecção (LD), precisão e exatidão do método analítico para determinação do diclofenaco e do ibuprofeno por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE).
- Determinar as condições ideais para extração, identificação e quantificação de diclofenaco e ibuprofeno em amostras aquosas por extração em fase sólida (EFS).
- Estimar e comparar a eficiência na remoção de resíduos de diclofenaco e ibuprofeno em ETEs que operam por meio do sistema aeróbio e sistema anaeróbio através da comparação da concentração dos resíduos dos fármacos nos esgotos afluentes e efluentes.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MEDICAMENTOS – IMPORTÂNCIA E CONSUMO

De acordo com a definição da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2002), o medicamento é um produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico. É uma forma farmacêutica terminada que contém o fármaco, geralmente, em associação com adjuvantes farmacotécnicos.

Os medicamentos, produzidos em escala industrial de acordo com especificações técnicas e legais, alcançaram o papel central na terapêutica e, simbolicamente, ultrapassaram as fronteiras do que se pode entender como um mero recurso terapêutico, tornando a prescrição destes produtos quase obrigatória nas consultas médicas (NASCIMENTO, 2002).

O desenvolvimento na pesquisa de novos fármacos, o intenso apelo mercadológico das grandes indústrias e a cura de doenças que antes eram consideradas fatais impulsionaram a demanda por medicamentos. O auto-consumo e a prática conhecida como “empurroterapia” também contribuem para o consumo excessivo e indevido de medicamentos.

Alder *et al.* (2006) *apud* Zhang, Geiben e Gal (2008), afirmam que o consumo mundial anual *per capita* de produtos farmacêuticos está estimado em aproximadamente 15 g. Já em países industrializados, este valor pode estar entre 50 a 150 g.

A dificuldade de obtenção de dados precisos sobre o consumo de medicamentos no Brasil é destacada por Stumpf *et al.* (1999), embora se estime que o país esteja entre os maiores consumidores de medicamentos do mundo, ao lado de países como Estados Unidos, França e Alemanha. De acordo com Bruno (2012), o Brasil é o sétimo mercado mundial em volume de medicamentos vendidos.

A facilidade de aquisição de medicamentos no mercado brasileiro, incluindo os sujeitos à prescrição médica, como o diclofenaco também corrobora para o uso inadequado destes produtos.

Segundo Zhang, Geiben e Gal (2008), frequentemente, os dados globais de consumo não são encontrados na literatura, visto que os pacientes podem obter estes produtos por diferentes vias, e enquanto os dados de prescrição são acessíveis, os números de medicamentos vendidos sem receita são difíceis de serem obtidos.

De acordo com Fent, Weston e Caminada (2006), os valores reais do emprego de medicamentos são incertos e determinar o consumo exato de determinado medicamento é um processo altamente complexo.

O grau de utilização de determinado medicamento varia intensamente entre os países. Zhang, Geiben e Gal (2008), afirmam que o consumo global anual de diclofenaco é estimado em 940 toneladas. Já a produção mundial de ibuprofeno é estimada em 15 mil toneladas por ano (MYERS, 2007).

Apesar de sua fundamental contribuição com a melhora na qualidade de vida da população, o elevado consumo de medicamentos pode estar relacionado com problemas de contaminação ambiental; dicotomia esta associada ao metabolismo dos fármacos no organismo, à baixa eficiência na remoção destes compostos pelos sistemas convencionais de tratamento do esgoto doméstico e à dinâmica dos poluentes no ambiente hídrico.

2.2 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIIS (AINEs)

Os fármacos pertencentes à classe dos AINEs estão entre os mais utilizados de todos os agentes terapêuticos. Faz parte deste grupo uma grande diversidade de compostos, que correspondem a diferentes classes químicas (RANG E DALE, 2007).

A Tabela 1 apresenta informações sobre o consumo anual de diclofenaco e ibuprofeno, que estão entre os AINEs mais consumidos, em diferentes países.

TABELA 1 - CONSUMO ANUAL DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM DIFERENTES PAÍSES

Fármaco	Alemanha 2001	Áustria 1997	Dinamarca 1997	Austrália 1998	Inglaterra 2000	Itália 2001	Suíça 2004
Diclofenaco*	85,80	6,14	-	-	26,12	-	4,50
Ibuprofeno*	344,89	6,7	0,03	14,2	162,2	1,9	25,00

ADAPTADO DE FENT, WESTON E CAMINADA (2006)

*DADOS EM TONELADAS

No Brasil, diversos fatores corroboram o elevado consumo de AINEs. Embora dados oficiais sobre a utilização desta classe de medicamentos não estejam disponíveis, diversos estudos apontam para a elevada utilização destes produtos (KUMMER E COELHO, 2002; SILVA E GIUGLIANI, 2004; MOTA *et al.*, 2010; VOSGERAU, *et al.*, 2011).

O diclofenaco e o ibuprofeno fazem parte da lista de medicamentos genéricos registrada na ANVISA, que proporciona a redução do produto de referência e contribui para o aumento do acesso aos medicamentos (ANVISA, 2012b).

O ibuprofeno é um medicamento de venda livre – pode ser adquirido sem receita médica, e consta da relação nacional de medicamentos do componente básico da assistência farmacêutica – RENAME, que contempla os medicamentos e insumos disponibilizados no Sistema Único de Saúde (SUS) (RENAME, 2012).

O diclofenaco faz parte da lista de medicamentos padronizados para utilização em unidades do Centro Municipal de Urgências Médicas (CMUM) da cidade de Curitiba, e também do Memento Terapêutico da Farmácia Curitibana, que contém os medicamentos padronizados pela Secretaria Municipal de Saúde (Curitiba, 2005).

Embora o diclofenaco seja classificado como medicamento de venda sob prescrição médica, a não obrigatoriedade de retenção da receita faz com que este fármaco possa facilmente ser adquirido em farmácias e drogarias.

As principais ações farmacológicas são os efeitos anti-inflamatórios, analgésico e antipirético. No entanto nem todos os AINEs apresentam estas ações no mesmo nível (RANG E DALE, 2007).

Além do diclofenaco e do ibuprofeno, pertencem a esta classe o ácido acetilsalicílico, o naproxeno, o ácido mefenâmico, a indometacina, o meloxicam, a nimesulida e o paracetamol (SILVA, 2006).

Os AINEs são prescritos constantemente para o tratamento de distúrbios músculo-esqueléticos, como artrite reumatóide, osteoartrite e espondilite

anquilosante, tomados sem prescrição para dores menores e frequentemente prescritos por odontólogos.

Devido ao efeito antipirético e analgésico apresentado por alguns fármacos pertencentes a este grupo terapêutico, estes também são amplamente indicados para esta finalidade (KATZUNG, 1995)

2.2.1 MECANISMO DE AÇÃO DOS AINEs

A ação anti-inflamatória, analgésica e antipirética dos AINEs decorre da inibição da enzima araquidonato ciclo-oxigenase (COX), com consequente inibição das prostaglandinas e tromboxanos (SILVA, 2006).

Existem dois tipos de COX: a COX-1 e a COX-2. A COX-1 é expressa na maioria das células como enzima constitutiva, como nos vasos sanguíneos, plaquetas, estômago e rins. Já a COX-2 está presente especialmente em células inflamatórias, como macrófagos, monócitos e sinoviócitos, e é induzida por estímulos inflamatórios.

Geralmente os AINEs inibem de forma variável ambas as formas de COX. Sendo assim, estes são classificados de acordo com a capacidade de inibição de COX-1 e COX-2. Este potencial de inibição é expresso através do IC₅₀, que reflete a concentração necessária para inibir 50% da atividade COX utilizando-se modelos de teste *in vitro* (KUMMER E COELHO, 2002).

De acordo com estes testes, quanto menor o quociente relativo de COX-2/COX-1, mais seletivamente o fármaco será para COX-2. Estes índices de inibição das duas isoformas auxiliam na comparação da potência das drogas e na predisposição clínica aos efeitos adversos (CARVALHO, CARVALHO E SANTOS, 2004).

A relação COX-2/COX-1 para o diclofenaco é 0,7, e para o ibuprofeno 15. Estes compostos são classificados como AINES não seletivos para COX- 1 e 2 (KUMMER E COELHO, 2002).

Se um fármaco inibe apenas a COX-2, este é denominado agente inibidor específico da COX-2 ou coxibe. Estes compostos foram introduzidos no mercado no final da década de 90 com indícios de menores índices de efeitos colaterais. No

entanto, embora estes novos fármacos possam apresentar reduzidos riscos adversos sobre o trato gastrointestinal, há considerável incerteza sobre os riscos em longo prazo associados com o uso destes agentes, particularmente no que diz respeito à toxicidade cardiovascular (GELLER *et al.*, 2012).

Devido ao seu mecanismo de ação, os AINEs compartilham em maior ou menor grau os mesmos efeitos adversos. Tais efeitos incluem irritação gástrica, diminuição do fluxo sanguíneo renal, tendência ao aumento de sangramento e de maneira controversa aumento da probabilidade de eventos trombóticos (especialmente para os inibidores da COX-2) (RANG E DALE, 2007).

2.2.2 DICLOFENACO

O diclofenaco é derivado do ácido fenilacético e apresenta a fórmula molecular $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ (FIGURA 1). É utilizado principalmente na forma de sal potássico ou sódico e pode ser administrado por via oral, intramuscular, retal ou tópica. Algumas propriedades físico-químicas do diclofenaco são apresentadas na Tabela 2.

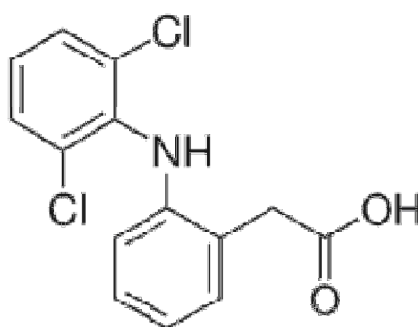


FIGURA 1 - ESTRUTURA MOLECULAR DO DICLOFENACO

TABELA 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO DICLOFENACO

Propriedade físico-química	Valor
Massa molar ($g\ mol^{-1}$)	296,15
Solubilidade em água ($g\ L^{-1}$ a 25 °C)	23,70
pK _a (25° C)	4,10-4,50
Log K _{OW} (25° C)	4,50-4,80

FONTE: MONTAGNER E JARDIM (2011); ZIYLAN E INCE (2011)

Este fármaco é um potente inibidor não seletivo da COX, e apresenta ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética (KATZUNG, 1995).

Segundo Geller *et al.* (2012), o diclofenaco está disponível internacionalmente há mais de 40 anos, e seu perfil farmacológico e de segurança estão documentados em diversos estudos básicos e clínicos. É o AINE mais frequentemente prescrito, e o 8º medicamento mais comercializado no mundo.

O diclofenaco é indicado no tratamento sintomático de doenças reumáticas, dores musculares, dor e inflamação no pós-operatório, nas dores de garganta e ouvido e em síndromes dolorosas diversas. Seus efeitos adversos incluem dor e desconforto epigástrico, sangramento gastrointestinal, úlcera gástrica ou intestinal, náusea, vômito, flatulência, diarreia e constipação.

Devido ao conhecimento do seu perfil de segurança, existe uma atual tendência na prescrição de diclofenaco, em função da experiência recente com os inibidores exclusivos da COX-2, como os coxibes (GELLER *et al.*, 2012).

2.2.2.1 FARMACOCINÉTICA DO DICLOFENACO

O diclofenaco é rapidamente absorvido após administração oral e possui meia-vida curta, de aproximadamente duas horas (KATZUNG, 1995).

A biotransformação do diclofenaco ocorre principalmente por hidroxilação e metoxilação simples e múltipla, resultando em vários metabólitos fenólicos (3'-hidróxi-4'-hidróxi-5-hidróxi-4'5-diidróxi e 3'-hidróxi-4'-metóxi-diclofenaco), dos quais a maioria é convertida em conjugados glicuronídeos. Uma pequena quantidade é biotransformada por glicuronização da molécula inalterada (BRASIL, 2005b).

Aproximadamente 60% da dose absorvida é eliminada por meio da urina como conjugado glicuronídeo da molécula inalterada e como metabólitos, dos quais a maioria também é convertida a conjugado glicuronídeo. A quantidade do fármaco eliminada pela urina correspondente a aproximadamente 1%. O restante da dose é eliminado como metabólitos por meio da bile nas fezes (BRASIL, 2005b).

2.2.3 IBUPROFENO

O ibuprofeno (ácido α -metil-4-(2-metilpropil) benzoacético é um derivado do ácido propiônico, apresenta a fórmula molecular $C_{13}H_{18}O_2$ (FIGURA 2).

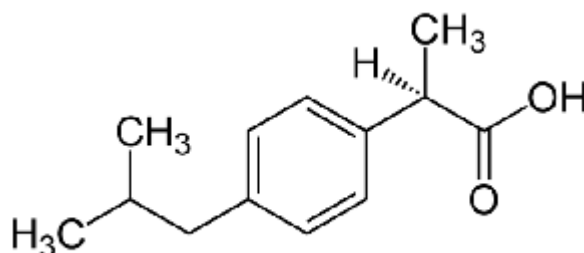


FIGURA 2 - ESTRUTURA MOLECULAR DO IBUPROFENO

Este fármaco foi sintetizado pela primeira vez pelo Dr. Stewart Adams e por John Nicholson Burrows Colins, em 1961 no Reino Unido. Foi rapidamente patenteado, mas apenas em 1969 começou a ser comercializado neste país. Atualmente é comercializado em todo o mundo e utilizado por milhões de consumidores (MARQUES, 2012).

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), o ibuprofeno apresenta-se como pó cristalino branco ou quase branco, com odor característico, é praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em etanol, acetona, metanol e clorofórmio, ligeiramente solúvel em acetato de etila, e solúvel em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos. As propriedades físico-químicas do ibuprofeno são apresentadas na Tabela 3.

TABELA 3 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO IBUPROFENO

Propriedade físico-química	Valor
Massa molar ($g\ mol^{-1}$)	206,28
Solubilidade em água ($g\ L^{-1}$ a 25 °C)	21
pK_a	4,9
$Log\ K_{ow}$	3,97

FONTE: MONTAGNER E JARDIM (2011)

O ibuprofeno pode apresentar-se sob diversas formas farmacêuticas, como cápsulas, comprimidos, suspensão oral, supositórios, granulado e creme ou gel tópico.

Este fármaco é indicado para o alívio de febre, dores leves e moderadas, dores de cabeça, cólicas menstruais, dor de dente, dores musculares e articulares, dor de garganta e outros sintomas associados a gripes e resfriados.

Os efeitos adversos mais frequentes que ocorrem com a utilização deste fármaco estão associados às suas características inibitórias da COX: sangramento gastrointestinal e ulcerações. Outros efeitos adversos incluem diarreia, vômitos e constipação, tontura, nervosismo, prurido, depressão, sonolência ou insônia.

2.2.3.1 FARMACOCINÉTICA DO IBUPROFENO

O ibuprofeno é rapidamente absorvido após a administração oral, no entanto a presença de alimentos no estômago pode tornar sua absorção mais lenta e diminuir o pico de concentração plasmática. Este fármaco apresenta meia-vida de duas horas (SILVA, 2006).

O ibuprofeno sofre biotransformação hepática, sendo menos de 1% eliminado de forma inalterada (MANTECORP, 2009).

Entre os seus metabólitos estão o ácido 2-(2-carboxipropil)-fenilpropiónico, ácido 2-(p-2-hidroxi-2-metilpropil)-fenilpropiónico e ibuprofeno conjugado. A eliminação do ibuprofeno ocorre principalmente por meio da urina: cerca de 90% do fármaco e seus metabólitos são excretados por esta via. A excreção urinária de uma única dose é completada em 24 horas (SILVA, 2006).

2.3 FONTES DE RESÍDUOS FARMACOLÓGICOS NO AMBIENTE

Os trabalhos de monitoramento ambiental de micropoluentes foram iniciados entre as décadas de 60 e 70. As primeiras investigações sobre resíduos de fármacos no ambiente envolveram o ácido clofíbrico, metabólito majoritário de reguladores lipídicos e os hormônios femininos. No entanto, o assunto gerou pouco interesse na década de 80. A conscientização sobre os efeitos de fármacos no

ambiente somente cresceu na metade da década de 90 (KÜMMERER, 2004). Nesta época foram propostas diversas técnicas de extração, as quais, associadas a técnicas cromatográficas de maior sensibilidade permitiram a determinação de poluentes em concentrações traço e ultra-traço.

Desde então, diversos estudos sobre o monitoramento de fármacos vêm sendo realizados em efluentes e lodos de ETEs, em águas naturais e inclusive em água potável, e concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$ e ng/L têm sido determinadas (METCALFE, *et al.*, 2003, CASTIGLIONI *et al.*, 2006, LINDQVIST, TUHKANEN E KRONBERG, 2005).

Atualmente os produtos farmacêuticos são a classe de poluentes orgânicos emergentes que têm mais chamado a atenção dos pesquisadores, devido aos números crescentes da utilização de medicamentos (SILVA, E COLLINS, 2011).

Os resíduos de fármacos encontrados no ambiente podem ser de diversas fontes, como a administração em animais, o descarte inadequado de medicamentos vencidos ou não utilizados e ainda os efluentes domésticos, hospitalares e industriais.

2.3.1 RESÍDUOS FARMACOLÓGICOS NOS ESGOTOS DOMÉSTICOS

Após a administração de um fármaco, parte significativa do composto original e/ou seus metabólitos são excretados por meio da urina e fezes, atingindo os esgotos domésticos e hospitalares. Esta via representa uma das maiores fontes destes compostos no ambiente (HEBERER, 2002a; PETROVIĆ, GONZALEZ E BARCELÓ, 2003; BOXALL, 2004).

As vias metabólicas e de conjugação dos fármacos são alguns dos fatores relacionados com a ocorrência de resíduos farmacêuticos no ambiente, e o conhecimento destas informações é essencial para prever o destino destes compostos nos compartimentos ambientais (HEBERER, 2002b).

O metabolismo de fármacos consiste na biotransformação destes compostos por meio de reações enzimáticas em metabólitos com polaridade superior ao composto original, com o objetivo de facilitar a eliminação através da urina (SILVA, 2006).

A biotransformação modifica a estrutura química da molécula ativa, que resulta em alterações nas propriedades físico-químicas e farmacêuticas. O metabolismo pode reduzir a atividade ou aumentar a solubilidade do composto em água. Entretanto, o metabolismo frequentemente é incompleto, e as taxas de excreção da molécula quimicamente inalterada podem variar de 0 a 100% (KÜMMERER, 2004).

O fígado é o principal órgão envolvido no metabolismo dos fármacos. No entanto, muitos compostos podem ser metabolizados no plasma, nos pulmões ou no intestino (RANG E DALE, 2007). As principais enzimas relacionadas com o metabolismo correspondem à família do citocromo P450, que são encontradas em quase todos os tecidos, mas em maior quantidade no fígado (COLEMAN, 2010).

As reações que metabolizam os fármacos são classificadas em dois grupos: reações não sintéticas ou catabólicas ou de fase 1 e reações sintéticas ou anabólicas ou de fase 2, que com frequência, mas não invariavelmente ocorrem de modo sequencial (RANG E DALE, 2007; SILVA, 2006).

As reações de fase 1 são caracterizadas por oxidação, redução, hidrólise, ciclização e desciclização (SILVA, 2006). Os produtos resultantes das reações de fase 1 são frequentemente mais reativos quimicamente do que o composto original, o que acaba gerando paradoxalmente, substâncias mais tóxicas ou carcinogênicas do que o fármaco inalterado (RANG E DALE, 2007).

As reações de fase 2 envolvem a acetilação, metilação, conjugação com ácido glicurônico, sulfato, conjugação ou glutatión, síntese de ribonucleosídeo ou ribonucleotídeo (SILVA, 2006).

O produto resultante das reações de fase 2 é quase sempre farmacologicamente inativo e menos lipossolúvel do que o fármaco precursor, e a eliminação ocorre através da bile ou da urina (RANG E DALE, 2007).

Uma importante questão relacionada com os produtos formados nas reações de fase 2, é que estes podem ser clivados nos processos de biodegradação empregados no tratamento dos esgotos e convertidos à sua forma padrão livre (HEBERER, 2002a; ZORITA, MARTENSSON, E MATHIASSEN, 2009).

2.3.2 MEDICAMENTOS DE USO VETERINÁRIO

Os medicamentos são utilizados em animais com finalidades veterinárias, ou como promotores do crescimento, e seus metabólitos são excretados no esterco, que muitas vezes é utilizado como fertilizante, assim como os lodos de esgoto, que pode ser uma via de introdução de resíduos de fármacos no solo e águas superficiais (BOXALL, 2004; KÜMMERER, 2004).

A utilização de medicamentos na aquicultura, especialmente os antibióticos é uma fonte preocupante de fármacos no ambiente, visto que esta prática resulta em um lançamento direto destes compostos nos corpos d'água e nos sedimentos (BOXALL, 2004).

De acordo com Maximiano *et al.* (2005), de um modo geral, na aquicultura a água é retirada de cursos d'água e devolvida a eles depois de passar pelos tanques de criação, e os produtos químicos utilizados podem ser transportados e causar impactos diversos em outros ambientes.

2.3.3 DESCARTE INADEQUADO DE MEDICAMENTOS

A dispensação de medicamentos em quantidade além da necessária para o tratamento, as amostras grátis distribuídas pelas indústrias farmacêuticas como forma de propaganda, e o gerenciamento inadequado de medicamentos por parte das farmácias e demais estabelecimentos de saúde podem ocasionar a sobra de medicamentos (EICKHOFF, HEINECK E SEIXAS, 2009).

Em pesquisa realizada por Silva (2005), verifica-se que a bula dos medicamentos não fornece orientação quanto ao descarte destes produtos. Da população que faz uso de medicamentos em casa, 83% despejam seu “remédio” vencido no lixo domiciliar comum (sem nenhum tipo de tratamento) e 58% sugerem uma coleta especial para os medicamentos.

O lançamento impróprio de medicamentos inutilizados diretamente nas águas residuárias é especialmente problemático, pois como neste caso o fármaco não é

submetido a nenhum processo de metabolização, existe o potencial de uma grande quantidade do composto ativo atingir a ETE.

Segundo Carvalho *et al.* (2009), existe a necessidade em primeiro lugar, de informar aos consumidores sobre os riscos ambientais do descarte inadequado de medicamentos, e a partir daí, desenvolver mecanismos eficientes para a coleta e destinação segura dos mesmos.

É importante destacar que existem Leis que visam normalizar o assunto e determinam as regras para disposição final.

A resolução 306/2004 da ANVISA (BRASIL, 2004), que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde (RSS) determina que a responsabilidade pelo gerenciamento destes resíduos é dos geradores e classifica os resíduos de acordo com suas características.

Os medicamentos são classificados como pertencentes ao Grupo B – químicos, e seu tratamento consiste na aplicação de método, técnica ou processo que modifique as características dos riscos inerentes aos resíduos, reduzindo ou eliminando o risco de contaminação, de acidentes ocupacionais ou de dano ao meio ambiente.

Dentre os geradores enquadram-se as drogarias e farmácias, distribuidores de produtos farmacêuticos, os laboratórios analíticos de produtos para saúde, e ainda os estabelecimentos de ensino e pesquisa na área da saúde.

A resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA 358/2005, BRASIL (2005), que dispõe sobre o tratamento e disposição final dos resíduos de saúde, também caracteriza os medicamentos vencidos ou não utilizados como RSS, e desta forma, a geração deste tipo de resíduo deve ser controlada e minimizada, visto as características oriundas destes compostos.

A resolução afirma que os resíduos pertencentes ao grupo B no estado sólido, quando não tratados, devem ser dispostos em aterro de resíduos perigosos Classe I, os resíduos no estado líquido não devem ser encaminhados para destinação final em aterros e os resíduos com características de periculosidade que não podem ser reutilizados, reciclados ou recuperados devem ser submetidos a tratamento e disposição final específicos.

Embora a resolução 306/2004 da ANVISA e a 358/2005 do CONAMA sejam de extrema importância na destinação final de resíduos de medicamentos oriundos

de instituições que prestam serviços relacionados com a saúde humana ou animal, estas não resolvem o descarte inadequado de medicamentos pela população.

Em julho de 2012 foi sancionada no Paraná a Lei n° 17211, que dispõe sobre a responsabilidade da destinação dos medicamentos em desuso no Estado do Paraná. De acordo com a determinação, todo o resíduo de medicamento deverá ter seu descarte e destinação final adequados, sob responsabilidade das empresas fabricantes, importadoras, distribuidoras e revendedoras. Os estabelecimentos que comercializam ou distribuem medicamentos ficam obrigados a aceitar a devolução das unidades usadas, vencidas ou inservíveis.

Um dos principais procedimentos utilizados no tratamento de medicamentos vencidos e inutilizados é a incineração. No entanto, esta prática pode resultar na formação de potentes poluentes ambientais, como dioxinas, dibenzeno-p-dioxinas policloradas e dibenzofuranos em níveis variados de emissão, de acordo com o incinerador empregado (GONÇALVES E OSHIMA-FRANCO, 2004), o que demonstra a necessidade de validação da metodologia utilizada. Os sistemas de tratamento térmico por incineração devem obedecer ao estabelecido na resolução do CONAMA n° 316 de 2002.

Embora o Brasil apresente grandes avanços na legislação, constata-se que não bastam somente leis, é necessário a implementação de políticas públicas que realmente permitam a resolução dos diversos problemas relacionados aos resíduos de medicamentos, abrangendo desde o produtor até o consumidor final (RODRIGUES, 2009).

2.3.4 RESÍDUOS DAS INDÚSTRIAS FARMACÊUTICAS

As indústrias farmacêuticas produzem anualmente milhares de toneladas de fármacos destinados à utilização humana e veterinária.

Além do gerenciamento e destinação inadequada do produto manufaturado, a lavagem e limpeza das áreas de pesagem e fabricação podem se caracterizar como fonte de resíduos farmacêuticos.

Desta forma, o emprego de um sistema de tratamento adequado para os resíduos e efluentes líquidos gerados na manufatura de produtos farmacêuticos é

essencial, pois evita o lançamento de uma grande quantidade de resíduos farmacêuticos no ambiente.

2.4 ESGOTOS: CARACTERÍSTICAS

Segundo a definição do CONAMA (2011), esgoto sanitário é a denominação genérica para despejos líquidos residenciais, comerciais, águas de infiltração na rede coletora, os quais podem conter parcela de efluentes industriais e efluentes não domésticos.

Os esgotos domésticos são provenientes de residências, departamentos comerciais, instituições ou qualquer instalação que utilize água para fins domésticos. Podem advir ainda de águas de infiltração e águas pluviais parasitárias. Contém urina, fezes, restos de comida, sabão e detergentes.

Os esgotos industriais apresentam uma composição bastante variada, são característicos do processo industrial realizado. Segundo Jordão e Pessoa (1995), visto que os efluentes industriais diferem até mesmo em processos semelhantes, cada indústria deve considerar seus esgotos individualmente.

Os esgotos contêm cerca de 99,9% de água. A fração restante inclui sólidos orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos, bem como micro-organismos. Portanto, é devido a essa fração de 0,1% que há necessidade de se tratar os esgotos (VON SPERLING, 2005).

2.4.1 ESGOTOS: COBERTURA E IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO

A coleta e o tratamento das águas residuárias está diretamente relacionada com a manutenção da saúde da população, melhora na qualidade de vida e das condições ambientais e promove a valorização da região.

A Lei 11.445/07, que institui a Política Nacional de Saneamento Básico, tem como princípios o estabelecimento da universalização do acesso aos serviços públicos de saneamento básico, com ampliação progressiva a todos os domicílios, integralidade e a adoção de métodos, técnicas e processos que considerem as peculiaridades locais e regionais.

No entanto, no Brasil, o número de pessoas que sofrem com a falta de infraestrutura sanitária é expressivo. De acordo com o IBGE (2008), 34,8 milhões de pessoas não possuem acesso à rede coletora de esgotos. Verifica-se acentuada discrepância na implantação deste tipo de serviço dependendo da região analisada.

Dados obtidos por meio do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento do ano de 2008, publicados pela Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (2010) mostram que no sudeste, o índice de coleta pode chegar a 72,1%. No centro-oeste, este valor chega a 49,5%. No sul a média é de 38,3%, enquanto no nordeste de apenas 25,6%. Já no norte do país somente 7% da população é contemplada a prestação deste serviço, e de todo o esgoto coletado, apenas 34,6% recebe algum tipo de tratamento.

Os grandes centros urbanos e regiões metropolitanas possuem uma grande quantidade de esgoto coletado que é lançado nos corpos hídricos sem tratamento. Segundo a Agência Nacional de Águas - ANA (2009), as redes coletoras de esgotos despejam diretamente nos corpos hídricos em média 2,89 bilhões de m³/ano de esgotos sem nenhum tratamento em zonas urbanas.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a educação, ciência e cultura (UNESCO, 2009), estima-se que no mundo existam cerca de 884 milhões de pessoas sem água tratada e aproximadamente 2,5 bilhões sem acesso ao saneamento básico. Outra questão preocupante é o elevado lançamento de esgotos sem nenhum tipo de tratamento pelos países em desenvolvimento, que pode chegar a 80%.

No esgoto doméstico é comum a presença de micro-organismos patogênicos, que podem ser responsáveis por doenças de veiculação hídrica, além de substâncias que promovem a degradação ambiental. Os efluentes industriais podem ainda transportar substâncias químicas tóxicas, com potencial para afetar toda a hierarquia biológica.

As doenças veiculadas pela água têm origem, principalmente, a partir de dejetos. Muitos micro-organismos patogênicos são parasitas do intestino humano e são eliminados juntamente com as fezes. Por falta de adequados sistemas de esgotamento, os dejetos de origem humana podem alcançar mananciais superficiais ou subterrâneos. A utilização da água desses mananciais para consumo pode resultar no acesso desses micro-organismos ao organismo e causar doenças (PIMENTA *et al.*, 2002).

A água pode veicular um grande número de doenças, como por exemplo, febre tifóide, cólera, salmonelose, shigelose e outras gastroenterites, poliomielite, hepatite A, verminoses, amebíase e giardíase, que podem ser responsáveis por elevadas taxas de mortalidade infantil. No entanto, o tratamento de efluentes é eficaz na remoção de micro-organismos patogênicos e contribui para a prevenção de doenças.

Diversos estudos demonstram que o sistema convencional aplicado ao tratamento de esgotos não é totalmente eficaz para a eliminação de uma ampla gama de micropoluentes. No entanto, alguns fármacos, como as penicilinas, o ácido acetilsalicílico e o paracetamol são eficientemente removidos através da tecnologia usual (HEBERER, 2002a). Desta forma, a carência de tratamento de esgotos no Brasil pode ocasionar um problema adicional relacionado à presença de resíduos de fármacos no ambiente: o lançamento contínuo de resíduos farmacológicos em águas naturais que seriam facilmente removidos pelo sistema de tratamento convencional.

2.4.2 ESGOTOS: TRATAMENTO CONVENCIONAL

Segundo Braga *et al.* (2002), o processo convencional de tratamento do esgoto pode adotar diferentes tecnologias para depuração, no entanto, de modo geral segue um fluxo que compreende as etapas de:

- tratamento preliminar,
- tratamento primário,
- tratamento secundário,
- tratamento terciário

- desinfecção.

2.4.2.1 TRATAMENTO PRELIMINAR DE ESGOTOS

O tratamento preliminar consiste de uma etapa realizada por processos físicos. De acordo com Metcalf e Eddy (2003), nesta etapa é realizada uma remoção grosseira dos materiais em suspensão, como trapos e garrafas de plástico através de grades largas, médias e finas, além da desarenação; em que a areia é removida via sedimentação.

As principais finalidades da remoção dos sólidos grosseiros são: a proteção dos dispositivos de transporte de esgotos (bombas e tubulações), proteção das unidades de tratamento subsequentes e a proteção dos corpos receptores (VON SPERLING, 2005).

Segundo Metcalf e Eddy (2003), a remoção da areia é importante para proteger os equipamentos mecânicos da abrasão, reduzir a formação de depósitos nos canais e reduzir a frequência de limpeza do digestor causada pela acumulação excessiva de areia.

A remoção da areia contida nos esgotos é feita por meio de unidades especiais denominadas desarenadores. O mecanismo de remoção da areia é simplesmente o de sedimentação: os grãos de areia, devido às suas maiores dimensões e densidade, vão para o fundo do tanque (VON SPERLING, 2005).

2.4.2.2 TRATAMENTO PRIMÁRIO DE ESGOTOS

Segundo Braga *et al.* (2002), no tratamento primário o esgoto ainda contém sólidos não grosseiros em suspensão cuja remoção pode ser feita em unidades de sedimentação, reduzindo a matéria orgânica contida no efluente.

De acordo com Von Sperling (2005), o tratamento primário dos esgotos destina-se à remoção de sólidos em suspensão sedimentáveis e sólidos flutuantes.

Neste processo, que atua por mecanismos físicos, forma-se o lodo primário bruto através dos sólidos em suspensão que gradualmente sedimentam no decantadores (BRAGA *et al.*, 2002),.

Os esgotos fluem vagarosamente através destas unidades, permitindo que os sólidos em suspensão - possuindo uma densidade maior do que a do líquido circundante - sedimentem gradualmente no fundo. Os componentes de menor densidade como graxas e óleos são removidos na superfície para posterior tratamento (VON SPERLING, 2005).

Ainda de acordo com Von Sperling (2005), a eficiência do tratamento primário na remoção dos sólidos em suspensão e da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) pode ser aumentada através da adição de coagulantes, como sulfato de alumínio, cloreto férrico ou outro, auxiliado ou não por um polímero.

2.4.2.3 TRATAMENTO SECUNDÁRIO DE ESGOTOS

Von Sperling (2005) afirma que a essência do tratamento secundário de esgotos é a inclusão de uma etapa biológica. Enquanto nos tratamentos preliminar e primário predominam mecanismos de ordem física, no tratamento secundário a remoção da matéria orgânica é efetuada por reações bioquímicas, realizadas por micro-organismos.

De acordo com Braga *et al.* (2002), no tratamento secundário é realizada a remoção da matéria orgânica não sedimentável, sólidos e eventualmente nutrientes como nitrogênio e fósforo através de reações bioquímicas aeróbias ou anaeróbias. É uma etapa de tratamento bastante eficaz, que pode reduzir a DBO em até 90%.

Os tratamentos baseados em processos biológicos são os mais frequentemente utilizados, uma vez que permitem o tratamento de grandes

volumes de efluente transformando compostos orgânicos tóxicos em CO₂ e H₂O (ou CH₄ e CO₂), com custos relativamente baixos. Dependendo da natureza doceptor de elétrons, os processos biológicos podem ser divididos em aeróbios ou anaeróbios. Nos aeróbios, que levam à formação de CO₂ e H₂O, oceptor de elétrons é oxigênio molecular. Nos anaeróbios, que degradam a CO₂ e CH₄, o oxigênio molecular está ausente, sendo que algumas formas de carbono, enxofre e nitrogênio participam como aceptores de elétrons (FREIRE *et al.* 2000).

Vários processos de tratamento secundário são concebidos de forma a acelerar os mecanismos de degradação que ocorrem naturalmente nos corpos receptores. Assim, a decomposição dos poluentes orgânicos degradáveis é alcançada, em condições controladas, em tempo menor do que nos sistemas naturais (VON SPERLING, 2005).

Embora o processo biológico seja caracterizado como um dos melhores para o tratamento dos esgotos, este remove apenas uma parcela da ampla gama de contaminantes emergentes (PETROVIĆ, GONZALEZ E BARCELÓ, 2003).

A remoção de fármacos pela etapa biológica é bastante variável. Compostos como o ácido acetilsalicílico, o paracetamol e as penicilinas podem ter remoção acima de 99% (HEBERER, 2002a), enquanto outras substâncias como o diclofenaco podem ter um incremento em sua concentração após a passagem pelo tratamento secundário (ZORITA, MARTENSSON, E MATHIASSEN, 2009). Diferenças na temperatura também podem afetar a remoção de fármacos no tratamento secundário (HEBERER, 2002b; BOXALL, 2004; VIENO, TUHKANEN E KRONBERG, 2005; CASTIGLIONI *et al.*, 2006).

Dentre as diversas metodologias de tratamento secundário, as mais comuns são os lodos ativados, os reatores anaeróbios, as lagoas de estabilização e os processos de disposição sobre o solo. No entanto, neste trabalho serão abordados os processos empregados nas ETEs de estudo, ou seja, os processos de lodos ativados e os reatores anaeróbios do tipo RALF (reator anaeróbio de lodo fluidizado).

2.4.2.4 SISTEMA DE LODOS ATIVADOS

De acordo com Alem Sobrinho (1981) *apud* Tsutiya (2001), o tratamento aeróbio de efluentes consiste em um sistema onde a matéria orgânica proveniente de águas residuárias afluentes é colocada em contato com o oxigênio juntamente com uma biomassa que é constantemente recirculada. Como este sistema demanda oxigenação, necessita de aeradores durante o processo. O oxigênio pode ser fornecido através de bolhas de ar injetadas por difusores sob condições de turbulência, por aeradores mecânicos de superfície ou ainda outros tipos de unidades de aeração.

No reator ou tanque de aeração, quando o oxigênio é incorporado ao líquido em quantidades adequadas, os micro-organismos passam a crescer em grande número, uma vez que o ambiente propicia o desenvolvimento destes organismos (NUVOLARI *et al.*, 2003).

O lodo ativado é caracterizado como uma massa microbiológica na forma de flocos, que retorna ao tanque de aeração para manutenção da população de bactérias. Este sistema é amplamente utilizado a nível mundial, em situações em que se deseja uma elevada qualidade do efluente com baixos requisitos de área (VON SPERLING, 2005).

No entanto, o sistema de lodos ativados inclui um índice de mecanização superior ao de outros sistemas de tratamento, implicando em uma operação mais sofisticada e em maiores consumos de energia elétrica (JORDÃO, 1997).

O processo de aeração prolongada em fluxo orbital, conhecido como carrossel permite a obtenção de um efluente com alta qualidade, garantindo uma eficiência na remoção de DBO acima de 95%, no entanto com elevado consumo de energia. Utiliza aeradores verticais que promovem turbulência, fazendo com que os sólidos permaneçam em suspensão e em contato com a matéria orgânica a ser degradada.

2.4.2.5 REATORES ANAERÓBIOS

O processo de digestão anaeróbia é realizado por diversos grupos de bactérias, e consiste na conversão de matéria orgânica na forma complexa em metano, gás carbônico, água, gás sulfídrico e amônia, através de reações de oxiredução (CHERNICHARO, 1997).

No tratamento anaeróbio de águas residuárias, uma menor quantidade de lodo biológico é formada comparada ao tratamento aeróbio (LEE e WELANDER, 1996).

Existem diversas variantes dos reatores anaeróbios. Um dos mais utilizados é o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo. Esta metodologia constitui-se como a principal tendência de tratamento de esgotos no Brasil, como unidade única ou seguida por alguma etapa de pós-tratamento.

Neste processo, o fluxo de entrada do líquido é ascendente. No interior do reator a matéria orgânica é degradada por bactérias anaeróbias, formando a manta de lodo. Como resultado da atividade anaeróbia, são formados gases (principalmente metano e gás carbônico), que podem ser reaproveitados como fonte de energia (VON SPERLING, 2005).

Os sistemas anaeróbios apresentam boa remoção da matéria orgânica biodegradável, no entanto são ineficientes na remoção de nitrogênio e fósforo e organismos patogênicos; assim os efluentes tratados por este tipo de sistema necessitam passar por uma etapa adicional visando atender os requisitos da legislação ambiental e proteger os corpos d'água receptores dos lançamentos.

A eficiência de remoção de DBO situa-se na faixa de 70%. O lodo formado já sai estabilizado, necessitando apenas de secagem antes da disposição final (VON SPERLING, 2005).

O sistema de flotação com adição de coagulantes é amplamente empregado como metodologia sequencial de pós-tratamento por RALF para complementar a remoção de poluentes.

Este processo é utilizado para separar partículas finamente dispersas e materiais graxos ou oleosos da fase líquida. A flotação é um processo

físico de separação no qual são injetadas bolhas de ar no sistema, que em contato com o material a ser removido resulta num aglomerado de densidade menor que a fase líquida, e o lodo é removido por um sistema mecânico de raspagem superficial (METCALF E EDDY, 2003).

A remoção de fármacos com diferentes características físico-químicas pelo sistema de flotação foi avaliada por Carballa, Omil e Lema (2005). Os autores demonstraram que a eliminação dos compostos pode ser afetada por diferenças na temperatura do sistema e na quantidade de gordura presente na fase líquida. A maior quantidade de gordura promoveu melhor remoção de todos os fármacos avaliados. Desta forma, a otimização desta etapa de tratamento pode contribuir com a redução de fármacos e outros micropoluentes nos esgotos.

Segundo ZORITA, MARTENSSON E MATHIASSEN 2009, a utilização de FeCl_3 não parece afetar substancialmente o nível de remoção de substâncias ácidas, visto que uma pequena redução nos níveis de diclofenaco e ibuprofeno foram observados após este tratamento químico (7% e 25% respectivamente).

2.4.3 TRATAMENTO TERCIÁRIO DE ESGOTOS

O tratamento terciário pode ser utilizado com a finalidade de remover poluentes tóxicos ou outros que não são biodegradáveis antes de sua descarga no corpo receptor.

Segundo Metcalf e Eddy (2003), o tratamento terciário é utilizado quando se necessita um tratamento de efluentes mais exigente. Geralmente é empregado quando objetiva-se o reuso do efluente tratado. Usos mais nobres demandam um tratamento mais exigente e usos menos nobres um tratamento mais simples.

Visto que o tratamento biológico não é capaz de remover totalmente micropoluentes como os fármacos, novas tecnologias de tratamento estão sendo avaliadas para melhorar a eficiência de remoção destes contaminantes, como os tratamentos por membranas biológicas e não

biológicas e os processos oxidativos avançados (PETROVIĆ, GONZALEZ E BARCELÓ, 2003).

No entanto este tipo de tratamento ainda é bastante raro no Brasil, devido aos elevados custos destes procedimentos e devido à carência de tratamento de esgotos no país. Desta forma, as principais metas brasileiras com relação aos sistemas de esgotamento sanitário são a coleta, o transporte, o tratamento e a disposição ambientalmente e sanitariamente adequadas.

2.4.4 TRATAMENTO DE ESGOTOS EM CURITIBA-PR

O município de Curitiba-PR possui 5 ETEs de grande porte em termos de vazão e população atendida, que lançam seus esgotos tratados nos corpos receptores da bacia do Alto Iguaçu. Destas estações, quatro operam unicamente através do sistema RALF, ou este complementado com algum processo de pós-tratamento. Apenas uma ETE utiliza o processo de lodos ativados, com mistura do tipo carrossel.

De acordo com a SANEPAR *apud* Franco (2010), Curitiba possui um índice de atendimento com rede coletora de esgotos de 89,25%, e o percentual de tratamento do esgoto coletado é de 93,58%.

2.4.5 REAPROVEITAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Durante séculos a água foi considerada um bem público de quantidade infinita, à disposição do homem por se tratar de um recurso natural auto-sustentável pela sua capacidade de autodepuração. Porém, o crescimento das cidades aumentou de tal forma que tal capacidade foi superada pela carga poluidora dos efluentes (PHILIPPI, 2005).

Recentemente foi estimado que a humanidade consome, sobretudo para a agricultura, cerca de 20% da água que escoar para os mares; e as previsões indicam que essa fração atingirá 75% no ano 2025 (BAIRD, 2002).

Uma das opções é aumentar o reuso dos efluentes para vários propósitos, especialmente na produção agrícola (PETROVIĆ, GONZALEZ E BARCELÓ, 2003). Além da irrigação agrícola, Giordani e Santos (2003) identificaram diversas possibilidades para o reuso de efluentes, como o resfriamento industrial, piscicultura, manutenção de vazão ecológica, limpeza urbana, paisagismo e recreação.

No entanto, visto que muitos contaminantes emergentes não são removidos nas ETEs, a determinação da remoção, da degradação e o conhecimento da toxicidade, principalmente em longo prazo são questões importantes no reaproveitamento de efluentes de ETEs, especialmente quando aplicados diretamente no ambiente.

2.5 REMOÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM ETES

A eliminação de fármacos polares e ácidos como o diclofenaco e o ibuprofeno em ETEs merece atenção especial, visto que devido as suas propriedades físico-químicas, como solubilidade em água e baixa degradabilidade, estes compostos podem atravessar todos os processos de filtração e atingir as águas subterrâneas e inclusive a água potável (PETROVIĆ *et al.*, 2005), e o diclofenaco é um dos fármacos detectados em maior frequência no ambiente aquático (SCHWAIGER *et al.*, 2004; ZHANG, GEIBEN E GAL, 2008).

A avaliação de fármacos ácidos é particularmente interessante, visto que em pH neutro estes compostos estão principalmente na forma iônica, e podem passar pelo tratamento dos esgotos com pequena sorção ao lodo de esgoto (THOMAS E FOSTER, 2005).

Segundo Richardson e Bowron (1985), existem três destinos possíveis para um fármaco em uma estação de tratamento de esgoto:

- pode ser biodegradável, ou seja, mineralizado a gás carbônico e água, como por exemplo, o ácido acetilsalicílico;
- pode passar por algum processo metabólico, ser degradado parcialmente, como as penicilinas;
- pode ser persistente como o clofibrato.

Na maioria das estações de tratamento de esgoto, os principais mecanismos de remoção de compostos orgânicos envolvem a adsorção em sólidos suspensos, a associação dos compostos com ácidos graxos e óleos, a biodegradação aeróbica ou anaeróbica, a degradação química por processos de hidrólise ou nitrificação e a volatilização (RAIMUNDO, 2007).

O percentual de remoção de fármacos em ETEs varia amplamente de acordo com as propriedades químicas do composto, com a estação do ano analisada, o perfil de consumo da população, o sistema empregado na ETE, o tempo de retenção hídrica, ou ainda, de acordo com Lindqvist, Tuhkanen e Kronberg (2005), devido a presença de resíduos industriais, que podem exercer efeitos tóxicos sobre os micro-organismos empregados no tratamento.

Castiglioni *et al.* (2006), afirmam que a elevação da temperatura aumenta a atividade microbiana, favorecendo a remoção de fármacos no verão. Os autores verificaram que o ibuprofeno apresentou uma taxa de remoção de 38% no inverno e 93% no verão.

Vieno Tuhkanen e Kronberb (2005) também observaram que a eliminação de fármacos em ETEs pode ser reduzida nos períodos de inverno, com uma diminuição de 25%. Os autores verificaram ainda que a remoção fármacos em Estações de Tratamento de água (ETAs) também sofre variação sazonal, visto que observou-se a presença de ibuprofeno e cetoprofeno na concentração de 8 ng/L apenas na água potável produzida no inverno.

Castiglioni *et al.* (2006), demonstram que alguns fármacos, com padrão de uso constante durante o ano, como beta bloqueadores, diuréticos e antiulcerosos apresentam níveis semelhantes nos afluentes no inverno e no verão. No entanto, fármacos antibióticos e anti-inflamatórios exibem diferenças sazonais, com níveis mais elevados no inverno.

Em estudo realizado no Canadá, verificou-se que o diclofenaco não foi detectado em nenhuma amostra de efluente final, o que contrasta com dados de outros estudos. No entanto, o ibuprofeno foi detectado na maioria das amostras de efluentes em concentrações de $\mu\text{g/L}$, que pode refletir o

perfil de consumo destes medicamentos neste país ou características inerentes ao processo empregado (METCALFE *et al.*, 2003).

Através do estudo realizado por Lindqvist, Tuhkanen e Kronberg (2005), pode-se verificar como o perfil de consumo está relacionado com a quantidade e o tipo de fármaco encontrado no esgoto bruto; visto que o ibuprofeno é o fármaco mais utilizado na Finlândia, e este composto foi o mais abundante no esgoto afluente. Porém, após o tratamento, o ibuprofeno foi o fármaco que apresentou a maior taxa de remoção. Já o diclofenaco foi o fármaco que apresentou o menor percentual de remoção.

No Brasil, a remoção de diclofenaco e ibuprofeno em ETE do município do Rio de Janeiro-RJ, que opera com sistema de lodos ativados foi avaliada por Stumpf *et al.* (1999). Os autores verificaram a eliminação de 75% dos fármacos no esgoto tratado. Como consequência da remoção incompleta, o diclofenaco foi verificado em pontos a jusante do corpo receptor em concentrações entre 20 a 60 ng L⁻¹.

Estes resultados indicam que o tratamento convencional aplicado ao tratamento dos esgotos não é designado à remoção de fármacos (PETROVIĆ, GONZALEZ E BARCELÓ, 2003), e esta ineficiência dos processos têm estimulado o desenvolvimento e o estudo de novas tecnologias de pós-tratamento, como ozonização, floculação e fotocatálise.

2.6 EFEITOS TÓXICOS DE FÁRMACOS NO AMBIENTE

No século XX mais de 100.000 substâncias químicas passaram a fazer parte do cotidiano, sendo utilizadas no ambiente doméstico, nas indústrias e na agricultura, e as consequências desta utilização para o ambiente e para a saúde humana têm sido ignoradas (JORGENSEN, 2002 *apud* KÜMMERER, 2004).

A pouca atenção dada aos contaminantes emergentes é que a presença destes compostos no ambiente não é regulada e estes não são classificados como poluentes ambientais. Para a maioria destas substâncias, a ocorrência, os riscos associados e dados ecotoxicológicos não estão disponíveis (PETROVIĆ, GONZALEZ E BARCELÓ, 2003).

As avaliações de toxicidade de fármacos geralmente são realizadas apenas para substâncias individuais, e não para efeitos sinérgicos. Alguns compostos são carcinogênicos, mutagênicos ou apresentam efeitos que afetam a reprodução. Entretanto, não há nenhum procedimento para conectar esses efeitos com sua emissão no ambiente (KUMMERER, 2004).

Segundo Chasin e Pedrozo (2003), deve-se ressaltar que o surgimento de uma substância química ou a manifestação de um efeito tóxico pode ocorrer num ponto distante do local de introdução inicial no ambiente. Os contaminantes presentes nas águas superficiais podem encontrar-se em solução ou em suspensão, estar adsorvido a gotículas ou partículas sólidas e assim serem transportadas pela água por longas distâncias.

O período que um fármaco permanece no ambiente é bastante variável, e está relacionado com as características intrínsecas ao composto, assim como do meio onde este é encontrado, como pH, incidência de luz solar, temperatura, constituição química, entre outros. Entretanto, segundo Petrović, Gonzalez e Barceló (2003), mesmo fármacos com altas taxas de remoção podem apresentar características de persistência e causar danos ao ambiente quando são continuamente introduzidos.

Uma vez no ambiente, os fármacos podem ser transportados e distribuídos pelo ar, água solo ou sedimentos, dependendo de suas características físico-químicas (BOXALL, 2004), e assim afetar organismos. Este quadro é agravado uma vez que os fármacos são desenvolvidos para serem persistentes, mantendo suas propriedades químicas por tempo suficiente para servir a um propósito terapêutico (BILA E DEZOTTI, 2003).

O transporte, o destino e comportamento de qualquer composto no ambiente e nas estações de tratamento de esgoto são influenciados por suas propriedades físicas e químicas, que regem a partição na água, solo ou biota. Parâmetros tais como coeficiente de partição octanol/água (K_{ow} – *octanol-water partition coefficient*), constante de dissociação (pK_a), solubilidade em água, entre outros, determinam se o composto possui tendência a ser transportado no meio aquático, bioacumular na cadeia alimentar ou ainda sofrer interação com o sedimento. Compostos com baixa solubilidade e elevado valor de K_{ow} , geralmente estão presentes em tecidos gordurosos na biota, o que promove bioacumulação na cadeia alimentar (CARBALLA, OMIL E LEMA, 2008).

No meio ambiente as substâncias químicas podem ser degradadas por processos químicos, como hidrólise e fotoxidação, e bioquímicos. Algumas moléculas recalcitrantes, ou seja, particularmente resistentes à degradação química e bioquímica, apresentam meia-vida longa na biota, no solo, nos sedimentos e na água, causando maior impacto ao ecossistema. Outras, por sua vez, ao sofrer degradação, resultam em produtos com toxicidade maior que a do precursor (CHASIN E PEDROZO, 2003).

Embora o conhecimento sobre os efeitos dos fármacos no ambiente ainda seja insuficiente, a preocupação com as consequências da presença de resíduos de fármacos no ambiente tem se tornado cada vez maior, e diversos estudos têm evidenciado os efeitos prejudiciais destes compostos aos organismos.

Oaks *et al.* (2004), demonstraram que resíduos de diclofenaco foram a causa do declínio da população de abutres no Paquistão, que conseqüentemente tornou esta espécie criticamente ameaçada. Os autores verificaram a relação direta entre resíduos de diclofenaco e falência renal nestas aves. A causa mais provável da exposição a resíduos deste fármaco pelos abutres é o consumo de carcaças de animais tratados com diclofenaco, visto que este medicamento é amplamente utilizado na medicina veterinária no Paquistão. A concentração de $0,007 \text{ mg kg}^{-1}$ foi suficiente para causar efeitos tóxicos nos abutres.

Ericson, Thorsén e Kumblad (2010), relatam que mexilhões azuis do Mar Báltico (*Mytilus edulis trossulus*) tiveram o crescimento prejudicado na presença de diclofenaco, ibuprofeno e propranolol, e ainda estes dois últimos tendem a vincular-se aos tecidos deste molusco, o que implica na bioacumulação destas substâncias.

Schwaiger *et al.*, (2004) avaliaram os efeitos do diclofenaco em trutas-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), em concentrações que variaram de $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ a $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, durante o período de 28 dias. Foram realizadas análises histopatológicas e de resíduos do fármaco em diversos órgãos dos peixes por cromatografia a gás e detecção por espectrômetro de massas. O estudo indica que a exposição ao diclofenaco por quatro semanas foi capaz de causar alterações histopatológicas nos rins e nas guelras, em concentrações a partir de $5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. A determinação de diclofenaco nos órgãos demonstrou a presença do fármaco em todas as estruturas analisadas.

Em estudo complementar, Triebkorn *et al.* (2004) avaliaram a citopatologia do diclofenaco no fígado, rim, guelras e intestino da truta-arco-íris, em

concentrações de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ a $500 \mu\text{g L}^{-1}$. Embora não tenham sido encontradas alterações celulares no intestino dos peixes, verificou-se que o diclofenaco ativa o metabolismo hepático e causa deterioração no rim e guelras de peixes expostos ao fármaco, podendo causar a debilitação do animal e colocar a espécie em risco em locais com elevada carga de efluentes.

Heckmann *et al.* (2007) estudaram a toxicidade aguda (48 horas) e prolongada (14 dias) do ibuprofeno sobre o crustáceo *Daphia magna* em concentrações de 0 a 80 mg L^{-1} . Os autores verificaram redução da taxa de crescimento dos organismos com alta concentração de ibuprofeno e diminuição da reprodução da espécie com baixas concentrações do fármaco.

Os efeitos ecotoxicológicos de fármacos têm sido identificados principalmente em organismos aquáticos. No entanto, avaliações adicionais são necessárias, principalmente em organismos terrestres, para os quais poucos dados têm sido obtidos.

2.7 MÉTODO DE EXTRAÇÃO E TÉCNICA ANALÍTICA EMPREGADA NA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM MATRIZES AQUOSAS

No campo de pesquisas na área de resíduos de poluentes ambientais, a escolha da técnica analítica e de extração dos compostos é caracterizada como uma etapa fundamental.

Diversos métodos cromatográficos são descritos na literatura para a determinação simultânea ou isolada do diclofenaco e do ibuprofeno.

No entanto, geralmente estes métodos utilizam valores extremos de pH na fase móvel, o que pode danificar a coluna cromatográfica, exigem derivatização de compostos ácidos (PETROVIĆ *et al.*, 2005); além de empregarem materiais e equipamentos de elevado custo, como o detector por espectrometria de massas, indisponíveis para muitos laboratórios.

Dentre as técnicas de extração normalmente utilizadas para concentrar analitos, destacam-se a extração líquido-líquido, a extração com fluido supercrítico, a extração em fase sólida e, mais recentemente, a microextração em fase sólida

(BARRIONUEVO E LANÇAS, 2001). Neste trabalho, a separação dos compostos foi realizada por meio da cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE) e empregou-se a EFS para a extração dos analitos de interesse.

2.7.1 CROMATOGRAFIA EM FASE LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A cromatografia visa separar adequadamente os compostos presentes em uma amostra, objetivando a identificação, quantificação ou obtenção da substância pura. Esta técnica está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária (DEGANI, CASS E VIEIRA, 1998).

Na CLAE emprega-se uma coluna fechada recheada com partículas de pequenas dimensões. Estas colunas são muito eficazes, mas oferecem uma grande resistência à vazão da fase móvel. Por esta razão faz-se necessário empregar uma bomba de alta pressão que faz com que a fase móvel migre com uma velocidade razoável através da coluna (JARDIM, COLLINS E GUIMARÃES, 2006).

As técnicas de separação, tais como cromatografia em fase gasosa, cromatografia em fase líquida de alta eficiência e eletroforese capilar, vêm se destacando na química analítica pela capacidade de permitirem a realização de análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, farmacêuticas, biológicas e em alimentos (RIBANI *et al.*, 2004); visto que os métodos fundamentados em CLAE permitem a determinação de uma variedade de compostos orgânicos que apresentam elevada polaridade, baixa volatilidade e elevada instabilidade térmica, características de muitos poluentes orgânicos emergentes (SILVA E COLLINS, 2011; PETROVIĆ *et al.*, 2005).

Os detectores eletroquímicos, de fluorescência e absorção espectrofotométrica na faixa do ultravioleta (UV), assim como o espectrômetro de massas, juntamente com o poder discriminatório dos parâmetros de retenção cromatográfica aumentam a confiabilidade do método.

2.7.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A determinação de micropoluentes em matrizes aquosas geralmente está condicionada a uma etapa de extração e pré-concentração (METCALFE *et al.*, 2003; WEIGEL *et al.*, 2004; WEIGEL, KALLENBORN E HÜHNERFUSS, 2004; LIU, ZHOU E WILDING 2004; JOSS *et al.*, 2005; PETROVIĆ *et al.*, 2005; BEHERA *et al.*, 2004; CALDAS *et al.*, 2011; MONTAGNER E JARDIM, 2011).

A extração em fase sólida (EFS) é uma das ferramentas mais poderosas e mais empregadas para a extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas. Esta técnica emprega sorventes recheados em cartuchos, nas formas de barril ou seringa, e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia em fase líquida em coluna (BARRIONUEVO E LANÇAS, 2001; QUEIROZ, COLLINS E JARDIM, 2001).

Segundo Caldas *et al.* (2011), as etapas envolvidas na EFS são basicamente divididas em:

- Condicionamento do cartucho: destina-se a eluir impurezas que possam estar presentes e ativar o sorvente.
- Percolação da amostra: a amostra é passada pelo cartucho com o objetivo de reter os analitos de interesse.
- Lavagem do cartucho: visa a eliminação de interferentes.
- Eluição dos analitos: os compostos de interesse são removidos do cartucho com solvente adequado.

Apesar da EFS apresentar vantagens, tais como praticidade e bons fatores de pré-concentração, esta técnica tem algumas limitações, como a dessorção do analito aprisionado no cartucho de EFS que requer geralmente, o uso de solventes tóxicos, além do elevado custo dos materiais necessários para a realização desta técnica (BARRIONUEVO E LANÇAS, 2001).

É importante ressaltar que o processo de extração dos analitos deve ser realizado com extremo cuidado, a fim de serem evitados resultados analíticos questionáveis (VAN ZOONEN *et al.*, 1999).

2.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou a implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Esse processo é denominado de validação (BRITO *et al.* 2003).

A validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2003).

É essencial que os estudos de validação sejam representativos e conduzidos de modo que a variação da faixa de concentração e os tipos de amostras sejam adequados. Um método para um composto majoritário requer um critério de aceitação e uma abordagem diferente é necessária em um método desenvolvido para análise de traços (RIBANI *et al.*, 2004).

Para a aceitação de uma metodologia para determinada aplicação como oficial, esta deve ser submetida ao processo de “validação completa”, que envolve todas as características de desempenho e um estudo interlaboratorial, que garante a reprodutibilidade da metodologia e a incerteza expandida associada à metodologia como um todo (THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002; RIBANI *et al.* , 2004).

Quando o laboratório utilizar métodos normalizados ou previamente validados, será necessário verificar se os dados de validação declarados são adequados ao propósito. No caso do método normalizado não declarar dados de desempenho relevantes para a aplicação em questão, o laboratório deve estabelecê-los, levando em consideração a adequação ao uso pretendido por meio de procedimentos de validação intralaboratoriais (INMETRO, 2003; SOUZA *et al.*, 2007).

A “validação no laboratório”, “validação intralaboratorial” ou *in house validation* também é aplicada para validar um método novo desenvolvido localmente ou para verificar que um método adotado de outras fontes está bem aplicado; e consiste das etapas de validação dentro de um único laboratório (RIBANI *et al.*, 2004).

Os parâmetros normalmente empregados para validação de métodos analíticos são: seletividade, linearidade e faixa de aplicação, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez (VAN ZOONEN *et al.*, 1999;

THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002; ANVISA, 2003; INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

A literatura dispõe de vários trabalhos de diferentes áreas que relatam a validação de métodos analíticos. Tais artigos abordam os critérios de validação de acordo com sua abordagem específica, com ênfase na exatidão, precisão e nos limites de detecção e quantificação (BRITO *et al.*, 2003).

Os parâmetros a serem avaliados na validação dependem do experimento, da intenção do uso do método analítico, pois nem sempre é necessário levar todos os critérios em consideração. Devem-se selecionar os critérios de maior relevância para obter o melhor processo de validação (VAN ZOONEN *et al.*, 1999), e desta forma, os experimentos podem ser direcionados para o que é realmente necessário (RIBANI *et al.* 2004).

2.8.1 SELETIVIDADE

Seletividade é a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes, tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (ANVISA, 2003).

A seletividade pode ser obtida de várias maneiras. Uma das formas é comparando a matriz isenta da substância de interesse e a matriz adicionada com esta substância (padrão), sendo que, nesse caso, nenhum interferente deve eluir no tempo de retenção da substância de interesse, que deve estar bem separada dos demais compostos presentes na amostra (RIBANI *et al.*, 2004).

Para a avaliação da seletividade em métodos cromatográficos podem ser empregados detectores, como arranjo de diodos e o espectrômetro de massas, que comparam o espectro do pico obtido na separação com o de um padrão e utiliza-se isto como uma indicação da presença do composto puro (ANVISA, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

O método de adição de padrão também pode ser aplicado para os estudos de seletividade, quando os reagentes ou os componentes da matriz alterem a

sensibilidade do detector ou quando não é possível obter a matriz isenta da substância de interesse (BRITO *et al.*, 2003; INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

2.8.2 LINEARIDADE E FAIXA DE TRABALHO

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003).

Para qualquer método quantitativo, é necessário determinar a gama de concentrações de analito sobre a qual o método pode ser aplicado (EURACHEM GUIDE, 1998).

O coeficiente de correlação linear (r) é frequentemente usado para indicar o quanto pode ser considerada adequada a reta como modelo matemático (INMETRO, 2003). Segundo a ANVISA (2003), o critério mínimo aceitável do r é 0,99.

A faixa de trabalho deve cobrir a faixa de aplicação para qual o ensaio vai ser usado. A concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho. Isto requer que os valores medidos próximos ao limite inferior da faixa de trabalho possam ser distinguidos dos sinais das provas em branco dos métodos. Este limite inferior deve ser igual ou maior que o limite de detecção do método (INMETRO, 2003).

Na extremidade inferior da gama de concentrações dos fatores limitantes estão os valores dos limites de detecção e/ou quantificação, e na extremidade superior da gama de concentração, as limitações serão impostas por efeitos diferentes dependendo do sistema de resposta do instrumento (EURACHEM GUIDE, 1998).

2.8.3 PRECISÃO

A precisão é a avaliação dos resultados obtidos em uma série de medidas em uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões em condições definidas. Pode ser estimada em dois níveis: repetibilidade e precisão intermediária, e expressa através da estimativa do desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

A repetibilidade (precisão intra-corrida) é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo sob as mesmas condições de operação (mesmo analista, instrumentação, locais e condições ambientais) (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003). Pode ser avaliada com no mínimo nove determinações dentro do intervalo de três diferentes concentrações e três replicadas cada, ou no mínimo seis determinações para uma única concentração-teste (ANVISA, 2003; BRITO *et al.*, 2003).

A precisão intermediária (precisão inter-corridas) refere-se a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes (ANVISA, 2003). Esta medida de precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um laboratório e, como tal, mais aconselhável de usar (INMETRO, 2003).

Para a determinação da precisão intermediária recomenda-se um mínimo de dois dias diferentes com analistas diferentes (ANVISA, 2003).

2.8.4 EXATIDÃO

A exatidão expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência (EURACHEM GUIDE, 1998; INMETRO, 2003).

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos, e está relacionado com a exatidão, pois reflete a quantidade de

determinado analito recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. Este estudo consiste na “fortificação” da amostra, ou seja, na adição de soluções com diferentes concentrações do analito de interesse seguida pela determinação da concentração do analito adicionado (BRITO *et al.*, 2003).

A eficiência do método geralmente varia em função da concentração da substância. Geralmente, a dispersão dos resultados aumenta com a diminuição da concentração e a recuperação pode diferir substancialmente a altas e baixas concentrações. Por esse motivo, a recuperação deve ser avaliada na faixa de concentração esperada para o composto de interesse (RIBANI *et al.*, 2004).

A ANVISA (2003), afirma que a recuperação deve estar entre 80% a 120% da concentração teórica do teste. No entanto, a recuperação do analito está relacionada com a concentração deste na amostra, e para concentrações do analito na amostra da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ (ppb), a faixa aceitável de recuperação está entre 40% a 120% (BRITO *et al.*, 2003).

2.8.5 LIMITE DE DETECÇÃO (LD)

O LD é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado como um valor exato, sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003).

O LD pode ser calculado de três formas: método visual, método relação sinal-ruído e no método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004).

Ainda de acordo com Ribani *et al.*, (2004), o método visual é utilizado para determinar o limite de detecção utilizando a matriz com adição de concentrações conhecidas da substância de interesse, de tal modo que se possa distinguir entre ruído e sinal analítico pela visualização da menor concentração visível (detectável).

No método do sinal-ruído compara-se o sinal de uma amostra em branco (isenta do analito de interesse), com amostras contendo o analito de interesse em concentrações muito baixas e estabelece-se uma relação sinal-ruído de 3:1, que pode ser aceita como LD (EURACHEM GUIDE, 1998; ANVISA, 2003; INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

Segundo a ANVISA (2003), o LD pode ser expresso ainda por meio de parâmetros da curva analítica, através da equação:

$$LD = DP_a \times 3 / IC$$

Onde:

DP_a corresponde ao desvio padrão do intercepto com o eixo de do Y, de no mínimo, 3 curvas analíticas construídas contendo concentrações do fármaco próximas ao suposto limite de detecção e IC é a inclinação da curva analítica.

2.8.6 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LQ)

O LQ é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002; ANVISA, 2003; INMETRO, 2003).

A diferença entre os LD e LQ é a ordem de grandeza das incertezas associadas (INMETRO, 2003), e desta forma os mesmos métodos para o estabelecimento do LD podem ser empregados para a determinação do LQ (método visual, método do sinal-ruído e método baseado em parâmetros da curva analítica) (RIBANI *et al.*, 2004), sendo que para o LQ, a relação sinal-ruído adotada é de 10:1 e a equação utilizada é a seguinte (ANVISA, 2003):

$$LQ = DP_a \times 10 / IC$$

Onde:

DP_a corresponde ao desvio padrão do intercepto com o eixo Y, de no mínimo, 3 curvas analíticas construídas contendo concentrações do fármaco próximas ao suposto limite de detecção e IC é inclinação da curva analítica.

2.8.7 ROBUSTEZ

A robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Um método diz-se robusto se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando esse está sendo executado (INMETRO, 2003).

Isto implica fazer avaliar variações para o método, e investigando o efeito posterior sobre o desempenho. É então possível identificar as variáveis que têm o efeito mais significativo e assegurar que, quando se utiliza o método, estão estreitamente controladas (EURACHEM GUIDE, 1998).

A robustez em um método que emprega cromatografia em fase líquida de alta eficiência pode ser avaliada, variando o pH e a proporção dos componentes da fase móvel ou a temperatura da coluna. Se estas mudanças estiverem dentro dos limites de exatidão, e precisão e seletividade aceitáveis, então o método possui robustez e tais variações podem ser incorporadas ao procedimento (RIBANI *et al.*, 2004).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

O monitoramento do diclofenaco e do ibuprofeno foi realizado em amostras de esgoto bruto (sem tratamento, aqui denominado afluente) e tratado (efluente) por rotinas aeróbias ou anaeróbias, coletadas em três estações de tratamento de esgoto (ETEs) da cidade de Curitiba-PR, denominadas ETE A, B e C. Estudos adicionais foram realizados para avaliar a eficiência de remoção apresentada por uma unidade de recuperação de água (URA), instalada na sequência de uma ETE anaeróbia (ETE A).

Para avaliar a eficiência dos sistemas de tratamento com relação à remoção dos fármacos pesquisados, foram realizadas análises em um rio da citada cidade, coletando-se amostras a montante e a jusante do ponto de lançamento do esgoto tratado pela ETE A.

Analisou-se ainda a água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento.

A ETE A é a maior estação avaliada, atende uma população de cerca de 600.000 habitantes. O tratamento é fundamentado no uso de Reatores Anaeróbios de Lodo Fluidizado (RALF) e opera com vazão nominal de 1120 L s^{-1} . Utilizando sistema de flotação como pós-tratamento, e coagulação com cloreto férrico (FeCl_3), o sistema permite a remoção de aproximadamente 80% da carga orgânica. Uma representação esquemática do sistema de tratamento é apresentada na Figura 3.

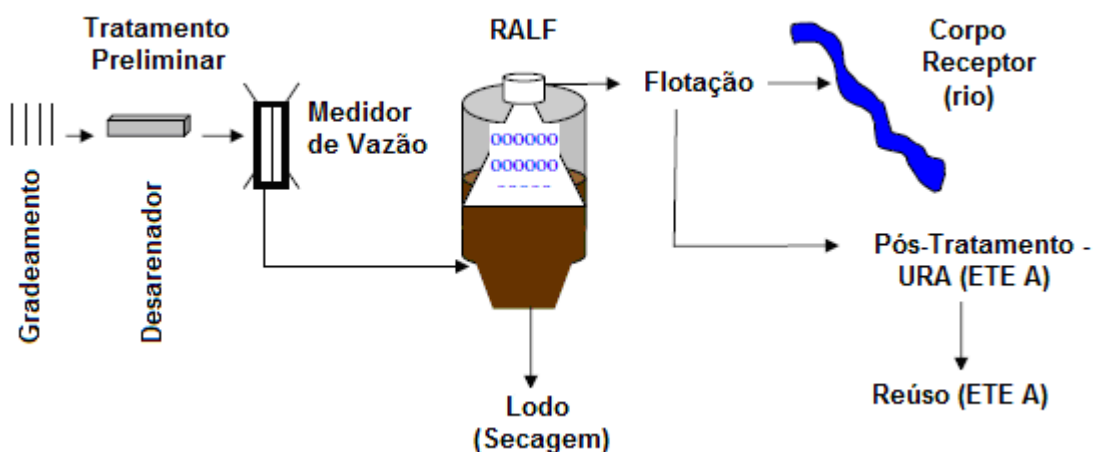


FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA DE TRATAMENTO DE ESGOTO FUNDAMENTADO EM REATORES DO TIPO REATOR ANAERÓBIO DE LODO FLUIDIZADO, EMPREGADO NAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO A E C ADAPTADO DE FRANCO, 2010

A referida ETE possui uma unidade de recuperação de água em escala piloto, com capacidade de tratamento de 15 L s^{-1} (FIGURA 4). A unidade permite tratamentos sequenciais fundamentados em ozonização (tratamento de aproximadamente $9 \text{ min}/2,4 \text{ mg L}^{-1}$), floculação com policloreto de alumínio, filtração em carvão antracitoso, areia e pedregulho, desinfecção com hipoclorito de sódio e filtração em carvão ativado granular.



FIGURA 4 - VISTA GERAL DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A
FONTE: GOMES, 2012.

Com o objetivo de avaliar a remoção de diclofenaco e ibuprofeno no sistema de tratamento empregado pela URA da ETE A, as coletas foram realizadas na água recuperada pronta para ser reutilizada.

O rio que recebe os efluentes da ETE A está localizado em uma região com alta densidade populacional. Visto que a presença de substâncias provenientes do metabolismo ou atividade humana pode ser empregada como marcador químico na avaliação de corpos hídricos (HEBERER 2002b; THOMAS E FOSTER, 2005; STRAUCH *et al.*, 2008), indicando o lançamento irregular de esgotos ou a autodepuração do ambiente aquático, realizou-se uma coleta a montante desta estação e a 250 m a jusante (FIGURA 5).

a)



b)



FIGURA 5 - PONTOS DE COLETA A MONTANTE (A) E JUSANTE (B) DO CORPO HÍDRICO QUE RECEBE O ESGOTO TRATADO DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A
FONTE: O AUTOR

A ETE B atende a uma população de 500.000 habitantes. A vazão nominal é de $870,00 \text{ L s}^{-1}$ e a remoção de matéria orgânica está em torno de 97%. Os esgotos são tratados por via aeróbia (lodos ativados), através do sistema de aeração prolongada em fluxo orbital conhecido como “carroussel”.

A Figura 6 apresenta o fluxograma típico do sistema de tratamento por lodos ativados.

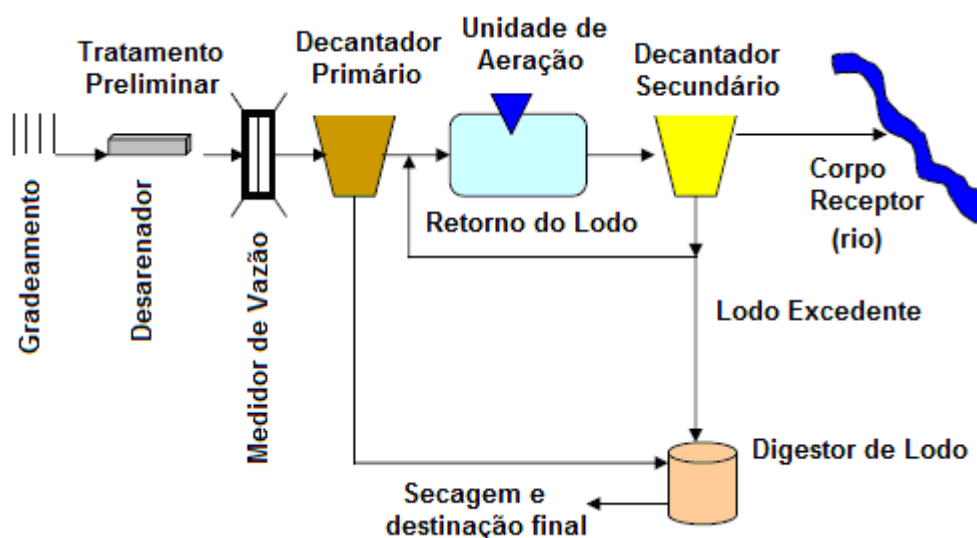


FIGURA 6 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE TRATAMENTO POR LODOS ATIVADOS
 FONTE: VON SPERLING (1996) APUD FRANCO (2010)

A ETE C atende uma população de cerca de 214.000 habitantes. A vazão nominal é de 420 L/s e a remoção da matéria orgânica está em torno de 80%.

Como pós-tratamento, é utilizado o sistema de flotação com adição de polieletrólitos. Assim como a ETE A, esta ETE trata os esgotos por sistema anaeróbio através da tecnologia de RALF (FIGURA 3).

Os pontos de coleta nas ETEs foram:

- Após o desarenador nas ETEs A, B e C (FIGURAS 7, 8 e 9), denominado como afluente;
- Após o sistema de flotação nas ETEs A e C (FIGURAS 10 e 11), denominado como efluente;
- Após o decantador secundário na ETE B, denominado como efluente (FIGURA 12).



FIGURA 7 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO AFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A
FONTE: GOMES, 2012.



FIGURA 8 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO AFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS B
FONTE: GOMES, 2012.



FIGURA 9 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO AFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS C
FONTE: GOMES, 2012.

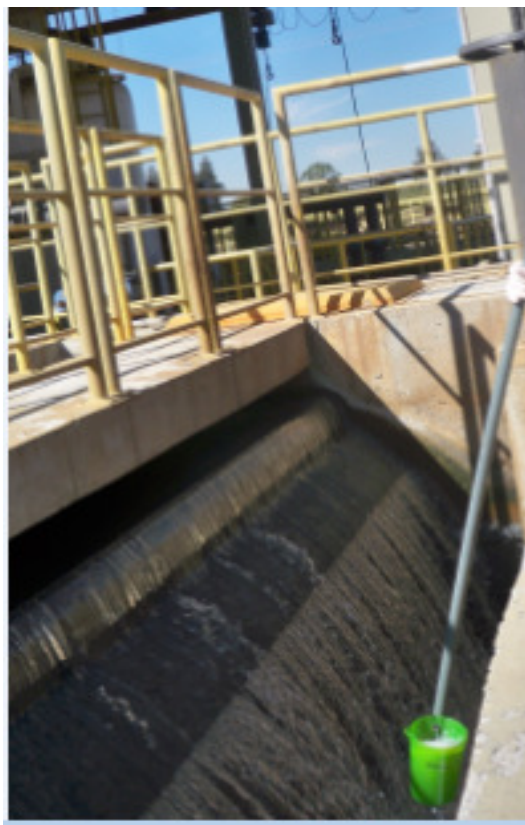


FIGURA 10 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO EFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A
FONTE: GOMES, 2012.



FIGURA 11 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO EFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS C
FONTE: GOMES, 2012.



FIGURA 12 - PONTO DE COLETA DO ESGOTO EFLUENTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS B
FONTE: GOMES, 2012.

A água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento na cidade de Curitiba-PR passa por diversos processos físicos e químicos antes de ser considerada adequada para consumo. Estas etapas incluem: coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoretação.

Com o objetivo de determinar a presença de diclofenaco e ibuprofeno na água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento da cidade de Curitiba-PR, realizou-se uma coleta em ponto disponível para o consumidor.

3.2 AMOSTRAGEM

Com o objetivo de determinar o diclofenaco e o ibuprofeno, foram realizadas duas campanhas amostrais nas ETEs A, B e C durante o período de julho a novembro de 2012, que compreenderam duas estações climáticas diferentes: inverno e primavera.

Na URA da ETE A realizaram-se duas coletas, uma no mês de agosto e outra no mês de novembro de 2012.

Na água de rio a montante e jusante da ETE A, e na água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento realizou-se uma coleta, que ocorreu no mês de novembro de 2012.

Os volumes de amostra percolados para cada matriz e o número de amostras gerado em cada campanha amostral estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 - NÚMERO DE CAMPANHAS AMOSTRAIS, VOLUME PERCOLADO DE AMOSTRA E NÚMERO DE AMOSTRAS POR CAMPANHA NOS PONTOS DE COLETA E MATRIZES AQUOSAS PARA A DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO

Ponto de coleta e/ou matriz aquosa	Número de campanhas amostrais	Volume percolado de amostra (L)	Número de amostras por campanha
ETE A / afluente	2	0,5	3
ETE A / Efluente	2	0,5	3
ETE B / Afluente	2	0,5	3
ETE B / Efluente	2	0,5	3
ETE C / Afluente	2	0,5	3
ETE C / Efluente	2	0,5	3
ETE A / URA	2	1	3
Rio a montante da ETE A	1	0,5	3
Rio a jusante da ETE A	1	0,5	3
Água de abastecimento	1	2	2

FONTE: O AUTOR

Devido à contribuição pluvial parasitária (parcela de escoamento de água de chuva inevitavelmente absorvida pela rede coletora de esgoto) e a possibilidade de diluição dos analitos, as coletas foram realizadas em períodos de estiagem (no mínimo 72 h sem chuva antes de cada coleta).

3.2.1 CUIDADOS PRÉVIOS À COLETA

Todas as vidrarias utilizadas foram lavadas com água corrente, deixadas em banho em solução de ácido nítrico 10% por no mínimo 4 horas, lavados novamente com água corrente, álcool, água corrente, água destilada e água ultrapura (Millipore-Simplicity UV), e então foram secas em estufa com temperatura a 70 °C.

As amostras foram coletadas em frascos âmbar de 4 L, mantidas em ambiente isolado termicamente durante o transporte e armazenadas a 4 °C.

3.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Para inibir a atividade microbiana, foram adicionadas nas amostras de esgotos, da URA e de água do rio algumas gotas de metanol (1 mL L⁻¹).

Uma das dificuldades na determinação de micropoluentes em amostras aquosas é que estas são extremamente complexas, com uma grande diversidade de substâncias suspensas e dissolvidas que podem interferir na análise. Outro problema relacionado com estas matrizes é que os analitos-alvo são encontrados em concentrações ínfimas, na ordem de µg L⁻¹ e ng L⁻¹, o que torna necessário a extração e concentração dos compostos de interesse previamente à determinação por CLAE (FIGURA 13).

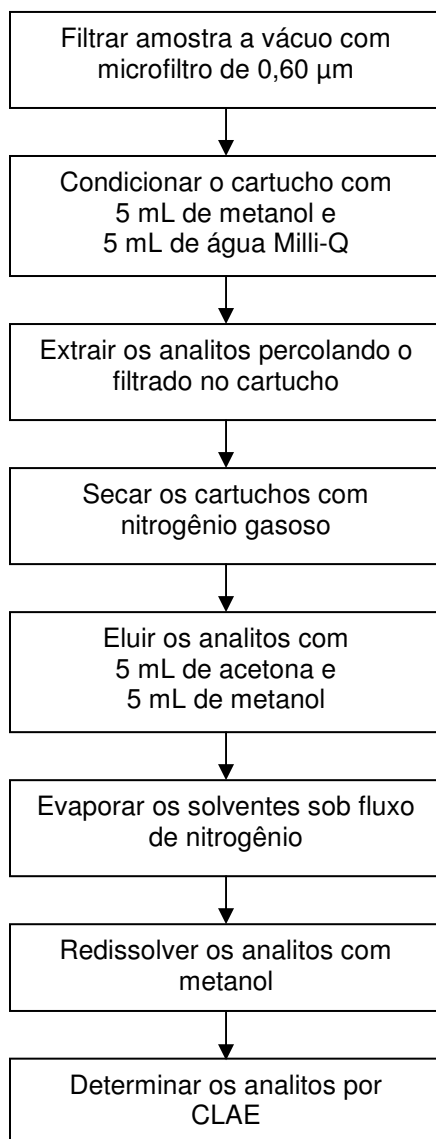


FIGURA 13 - ETAPAS PARA O PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Após as coletas, cada amostra de esgoto e de água de rio foi filtrada a vácuo em microfiltro de fibra de vidro de 0,60 μm para se reduzir a quantidade de material particulado em suspensão. O filtrado correspondente a cada amostra foi então submetido a EFS com o cartucho correspondente em sistema de manifold a vácuo, com uma vazão entre 4 a 5 mL min^{-1} (FIGURA 14).



FIGURA 134 - SISTEMA DE MANIFOLD UTILIZADO PARA EXTRAÇÃO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO
FONTE: O AUTOR

As amostras de água recuperada pela URA e para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento não necessitaram de filtração, e foram diretamente submetidas à EFS.

Para eliminar a maior quantidade possível de água, os cartuchos foram submetidos a um fluxo suave de nitrogênio gasoso (FIGURA 15).



FIGURA 15 – NITROGÊNIO GASOSO UTILIZADO PARA SECAGEM DO CARTUCHO
FONTE: O AUTOR

Após a extração dos analitos, realizou-se a eluição com 5 mL de acetona e 5 mL de metanol em sistema de manifold à vácuo (FIGURA 16).

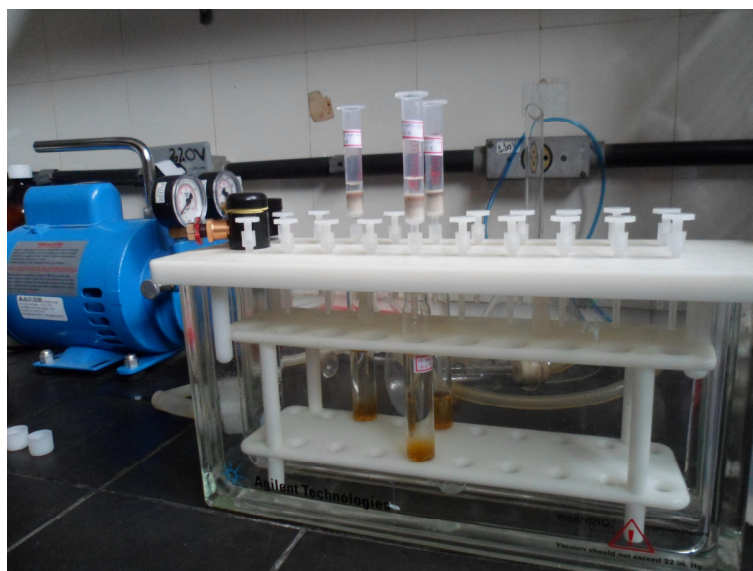


FIGURA 16- SISTEMA DE MANIFOLD UTILIZADO PARA ELUIÇÃO DOS ANALITOS
FONTE: O AUTOR

Os eluatos foram evaporados sob fluxo suave de nitrogênio (FIGURA 17) e redissolvidos com metanol. Os extratos foram armazenados em temperatura de -10°C e protegidos da luz até análise por CLAE.



FIGURA 17 - NITROGÊNIO GASOSO PARA SECAGEM DOS ELUATOS
FONTE: O AUTOR

3.4 MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO

Antes de realizar experimentos de validação ou mesmo análises de amostras, deve-se avaliar se o sistema utilizado para a análise é capaz de fornecer dados de qualidade aceitável (RIBANI *et al.*, 2004).

Neste trabalho as determinações cromatográficas foram realizadas por CLAE-DAD, utilizando-se um cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência (CLAE) Varian 920 LC, acoplado a um Detector de Arranjo de Diodos (DAD), equipado com coluna C18 (microsorb-MV100-5, 250 x 4,6 mm), pré-coluna C8 da mesma marca e software GALAXIE v 1.9. O volume de injeção das amostras foi de 50 µL.

Os solventes e suas respectivas proporções na fase móvel foram determinados a partir de diversos testes preliminares, baseados em dados disponíveis na literatura (STAFIEJ, PYRZYNSKA E REGAN, 2007; MONTAGNER E JARDIM, 2011; PEDROSO *et al.*, 2011).

A vazão empregada foi de 1 mL min⁻¹ e a seleção do melhor comprimento de onda para o diclofenaco e o ibuprofeno nas condições cromatográficas determinadas foi realizada através do detector DAD acoplado ao CLAE.

3.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO E DE EXTRAÇÃO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO

Para a comprovação da eficiência do método de determinação de diclofenaco e ibuprofeno, os resultados foram avaliados de acordo com padrões estabelecidos em guias para o procedimento de validação de métodos analíticos e bioanalíticos de organizações como ANVISA, INMETRO, IUPAC, EURACHEM e também de acordo com trabalhos que abordam a validação de métodos analíticos (BERG, MURTA E KUGLER, 1988; BRITO *et al.*, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; PINHO *et al.*, 2009).

No entanto a validação da metodologia analítica para determinação de micropoluentes como os fármacos em amostras de esgotos não é contemplada por resoluções ou guias específicos.

A legislação, no que diz respeito à validação de metodologias, tem várias nuances e diferentes interpretações. Parte desta característica é intencional, pois permite a adaptação para cada tipo de problema (RIBANI *et al.*, 2004).

Os parâmetros a serem avaliados na validação dependem da natureza da metodologia e da finalidade do uso do método analítico e nem sempre é necessário levar todos os critérios em consideração. Devem-se selecionar os critérios de maior relevância para obter o melhor processo de validação (VAN ZONEN, 1999; RIBANI *et al.*, 2004).

Desta forma avaliou-se a linearidade, a precisão, o limite de detecção e o limite de quantificação e a exatidão (relacionada à extração em fase sólida).

3.5.1 LINEARIDADE

Para determinação da linearidade, primeiramente foram construídas curvas analíticas pelo método de padronização externa, que compara a área da substância a ser quantificada na amostra com as áreas obtidas com soluções de concentrações conhecidas preparadas a partir de um padrão (RIBANI *et al.*, 2004).

Foram empregados no mínimo oito valores de concentração, que está acima do especificado pela IUPAC (THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002) e pela ANVISA (2003), que especificam um mínimo de seis e cinco níveis de concentração respectivamente para análise da linearidade.

As soluções de trabalho foram preparadas a partir de uma solução estoque de 100 mg L^{-1} de cada um dos fármacos.

Em relação à faixa de aplicação para a determinação dos parâmetros analíticos foram construídas curvas analíticas de acordo com os limites inferiores do diclofenaco e do ibuprofeno até a concentração de $1,25 \text{ mg L}^{-1}$. Para análise das amostras reais as curvas analíticas contemplaram um valor superior de concentração, do limite inferior dos fármacos até $7,00 \text{ mg L}^{-1}$.

A partir dos valores obtidos por meio da curva analítica, calculou-se o coeficiente de correlação (r), tendo como critério mínimo aceitável de $r = 0,99$ (ANVISA, 2003).

3.5.2 LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO (LD)

O LD foi determinado em parâmetros da curva analítica e através da análise de cromatogramas obtidos para concentrações decrescentes dos fármacos, onde os picos podem ser distinguidos do ruído do método instrumental, porém com precisão superior a 20%.

3.5.3 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO (LQ)

O LQ foi estimado pelo método baseado em parâmetros da curva analítica e por análises de soluções decrescentes dos analitos até o menor nível determinável com precisão e exatidão aceitáveis; sendo este último método empregado neste trabalho com coeficiente de variação (CV) máximo de 20%.

3.5.4 PRECISÃO

A precisão foi avaliada mediante a determinação da repetibilidade (precisão intracorrida) e precisão intermediária (precisão intercorridas).

Para determinação da repetibilidade, realizou-se a injeção de uma mesma amostra, em triplicata dos padrões dos fármacos em dois níveis de concentração: 1,250 mg L⁻¹ e 0,300 mg L⁻¹, no mesmo dia.

A precisão intermediária foi avaliada através da injeção de amostras dos padrões dos fármacos nos mesmos níveis de concentração empregados na repetibilidade e em triplicata em 3 dias diferentes: 1º dia, 7º dia e 14º dia.

Para a análise deste parâmetro foram feitas novas soluções de trabalho com os padrões dos fármacos nas duas concentrações testadas, para cada dia analisado.

3.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO (EXATIDÃO)

Neste trabalho a exatidão está relacionada com a recuperação proporcionada pela técnica de Extração em Fase Sólida (EFS) em água ultrapura e em amostras de esgotos.

Diversos fatores podem influenciar na eficiência da EFS. Por este motivo, a recuperação foi avaliada com cartuchos com diferentes fases adsorventes, diferentes valores de pH, diferentes volumes de amostra, diferentes volumes de reconstituente, diferentes concentrações dos analitos e com a interferência da matriz (esgoto), verificada com o método de adição de padrão.

3.6.1 FASES ADSORVENTES PARA EXTRAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO

A literatura descreve várias fases adsorventes para EFS do diclofenaco e ibuprofeno. Entretanto, a definição a respeito do melhor adsorvente para extração de anti-inflamatórios ácidos é inconclusiva. Alguns autores indicam que fases estacionárias de sílica C18 alcançam resultados adequados (METCALFE *et al.*, 2003; JOSS *et al.*, 2005); enquanto outros demonstram recuperações superiores com adsorventes poliméricos (WEIGEL, KALLENBORN E HÜHNERFUSS, 2004; PETROVIĆ *et al.*, 2005). Neste trabalho avaliaram-se cartuchos para EFS com diferentes volumes e quantidade de adsorvente (TABELA 5).

TABELA 5 - CARTUCHOS PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA AVALIADOS

Cartucho	Marca comercial	Quantidade de adsorvente (mg)	Volume (mL)
Bond Elut [®]	Varian [®]	200	3
Oasis HLB [®]	Waters [®]	200	6
Strata X [®]	Phenomenex [®]	200	6
Bond Elut [®]	Varian [®]	500	6

FONTE: O AUTOR

As fases estacionárias mais utilizadas para separação de compostos orgânicos são do tipo fase reversa, com base de sílica com grupos C18. A alta popularidade destes adsorventes deve-se à elevada capacidade de retenção de compostos não-polares. Os adsorventes de octadecilsílica são considerados como tendo o mais amplo espectro de retenção entre os adsorventes de sílica, uma vez que retêm mais analitos orgânicos de matrizes aquosas.

Os cartuchos Bond Elut[®] 200 mg/3 mL e 500 mg/6 mL, utilizados neste trabalho são com base de sílica com grupos C18 e pertencem ao lote 0714109 e 0703712, respectivamente. As especificações são apresentadas na Tabela 6.

TABELA 6 - ESPECIFICAÇÕES DOS CARTUCHOS BOND ELUT[®] EMPREGADOS

Parâmetro	Referência		
Área superficial específica (m ² g ⁻¹)	460-520		
Diâmetro médio de poro (Å)	60-87		
Diâmetro médio de partícula (µm)	47-60		
Distribuição do tamanho de partícula (%)	≤ 20 µm ≤ 12	≤ 31 µm ≤ 15	≥ 80 µm ≤ 15
Pureza do tubo	-		
Pureza do <i>Fritz</i>	-		

FONTE: *Varian[®], 2009 e **Varian[®], 2012

Os cartuchos Strata X[®] são de natureza polimérica (divinilbenzeno). Em função de seu caráter hidrofílico-lipofílico cobrem uma diversa gama de analitos, e assim possibilitam uma melhor recuperação de fármacos de diferentes características.

Neste estudo foram empregados os cartuchos Strata X[®] pertencentes ao lote S300-155, e suas especificações são apresentadas na Tabela 7.

TABELA 7 - ESPECIFICAÇÕES DOS CARTUCHOS STRATA X[®] EMPREGADOS

Parâmetro	Referência
Área superficial ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	760-820
Tamanho médio de poro (Å)	81-91
Volume de poro (ml g^{-1})	1,10-1,30
Tamanho médio de partícula (μm)	28-34
Teor de finos (%) *	< 0,2

*Definido como o percentual de partículas com diâmetro inferior a 10 μm . Estas partículas podem atravessar o *frit* de retenção e contaminar amostras

FONTE: Phenomenex[®], 2012

Os cartuchos Oasis HLB[®] contém adsorvente de natureza polimérica composta por dois monômeros; o lipofílico divinilbenzeno e o hidrofílico N-vinilpirrolidona. São indicados para extração de compostos ácidos, básicos ou neutros e polares ou apolares (WATERS, 2002).

Os cartuchos Oasis HLB[®] empregados neste trabalho correspondem ao lote 090A31325A, e as especificações são apresentadas na Tabela 8.

TABELA 8 - ESPECIFICAÇÕES DOS CARTUCHOS OASIS HLB[®] EMPREGADOS

Parâmetro	Referência
Área superficial específica ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	727-889
Diâmetro médio de poro (Å)	73-89
Volume total de poro ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)	1,18-1,44
Diâmetro médio de partícula (μm)	50,0-65,0
Teor de finos (%)	$\leq 1,0$
Peso médio do adsorvente (g)	0,500
Teste de limpeza	*

*Realizado com acetonitrila para garantir que o adsorvente encontra-se livre de contaminantes abaixo do nível de partes por milhão (ppm).

FONTE: WATERS[®], 2011

Os cartuchos Bond Elut[®] 200 mg/3 mL, Strata X[®] e Oasis HLB[®] não foram empregados na avaliação de todos os parâmetros empregados neste estudo. Após o estabelecimento das melhores condições, os testes foram realizados apenas com os cartuchos Bond Elut[®] 500 mg/5 mL.

A análise de amostras reais foi realizada com os cartuchos Bond Elut[®] 500 mg/5 mL. No entanto, testes com amostras de esgotos foram realizados com os cartuchos Strata X[®] e Oasis HLB[®].

Desta forma, o tipo de cartucho utilizado em cada parâmetro é descrito na metodologia de cada tópico.

3.6.2 CAPACIDADE DOS CARTUCHOS PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA PARA ESGOTO AFLUENTE

Os adsorventes empregados nos cartuchos para EFS podem apresentar partículas e poros de tamanhos bastante pequenos, da ordem de μm e \AA , que proporcionam elevada área de superfície, e conseqüentemente, elevada eficiência.

Apesar de tais características, a pequena quantidade de adsorvente e à compactação que este recebe limitam o volume de amostra passível de ser percolada.

Esta limitação depende também de características associadas à matriz, como presença de material particulado.

Os esgotos afluentes são caracterizados como uma das matrizes de maior complexidade, com uma grande quantidade de material particulado. Então avaliou-se o volume suscetível de percolação destas amostras através dos cartuchos Bond Elut[®] 200 mg/3 mL e 500 mg/6 mL, Strata X[®] e Oasis HLB[®] sem que houvesse entupimento dos mesmos.

3.6.3 INFLUÊNCIA DO pH

Um dos parâmetros críticos a serem observados durante a determinação de fármacos, é o que se refere ao pH da amostra, que deve ser otimizado em função da acidez ou basicidade dos analitos pois, em muitos casos, o pH do meio determina a forma química do composto em solução, e conseqüentemente, interfere na eficiência da extração (HERNÁNDEZ, SANCHO E GUERRERO, 2007; SILVA E COLLINS, 2011).

Foram avaliados diferentes valores de pH (4, neutro e 8) na recuperação dos cartuchos Bond Elut[®] 500 mg/5 mL e Strata X[®] 200 mg/3 mL, em amostras de água ultrapura, com as condições apresentadas na Tabela 9.

TABELA 9 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH NA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA DOS CARTUCHOS BOND ELUT® E STRATA X®

Concentração de diclofenaco e ibuprofeno ($\mu\text{g/L}$)	Volume das amostras (mL)	Volume de reconstituente (μL)	Pré-concentração
10	100	500	200 x

FONTE: O AUTOR

3.6.4 VOLUMES DE AMOSTRA

A percolação de diferentes volumes de amostra através dos cartuchos para EFS é um dos fatores que está diretamente relacionado com o fator de concentração que pode ser alcançado.

O emprego de volumes maiores permite a determinação de analitos em amostras que se encontram em menor concentração.

Para análise da recuperação do diclofenaco e do ibuprofeno mediante este parâmetro, foram testados três volumes de amostras de água ultrapura para os cartuchos Bond Elut® (500 mg/5 mL) e Strata X®, conforme a Tabela 10.

TABELA 10 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO COM DIFERENTES VOLUMES DE AMOSTRAS

Volume das amostras de água (mL)	Concentração de diclofenaco e ibuprofeno (μL^{-1})	Volume de reconstituente (μL de metanol)	Fator de concentração	Concentração do extrato ($\mu\text{g L}^{-1}$)
200	0,5	500	400 x	200
300	0,5	500	600 x	300
500	0,5	500	1000 x	500

FONTE: O AUTOR

3.6.5 VOLUME DE RECONSTITUINTE

Assim como o volume de amostra percolado, o volume de reconstituente também permite a determinação de analitos em menor nível de concentração, visto que a utilização de quantidades menores de reconstituente permite a obtenção de um maior fator de concentração.

No entanto, o emprego de volumes muito reduzidos de reconstituente dificulta a manipulação das amostras, pode implicar em perdas do analito e impossibilitar novas análises da mesma amostra caso seja necessário.

A recuperação do diclofenaco e do ibuprofeno para este parâmetro foi avaliado para os cartuchos Bond Elut[®] e Strata X[®], com água ultrapura, conforme a Tabela 11.

TABELA 11 - CONDIÇÕES EMPREGADAS NA AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO COM DIFERENTES VOLUMES DE RECONSTITUINTE

Volume de amostra (mL)	Concentração de diclofenaco e ibuprofeno ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Volume de reconstituente (μL)	Pré-concentração
300	0,5	150	2000 x
		300	1000 x
500	0,5	150	3333 x
		300	1667 x

FONTE: O AUTOR

3.6.6 CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS

A eficiência do método pode variar em função da concentração da substância. Geralmente, a dispersão dos resultados aumenta com a diminuição da concentração e a recuperação pode diferir substancialmente a altas e baixas concentrações. Após o estabelecimento das condições que propiciam a melhor exatidão avaliou-se a recuperação em 500 mL de água ultrapura em triplicata fortificada em três níveis de concentração ($10,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$).

3.6.7 DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE QUEBRA

O volume de quebra é definido como a quantidade de amostra que pode ser percolada através da fase sólida, sem perda dos analitos de interesse por lixiviação. Este parâmetro é determinado através do aumento do volume da amostra contendo a mesma quantidade do analito.

Diversos estudos relatam a presença de micropoluentes na água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento. No entanto, geralmente estes micropoluentes são encontrados bastante diluídos, em concentrações menores das que são observadas nos esgotos.

O volume de quebra foi avaliado na água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento em cartuchos Bond Elut[®] 500 mg; fortificada com 0,5 mg L⁻¹ de diclofenaco e ibuprofeno, nos seguintes volumes de amostra: 1 L, 1,5 L e 2 L.

3.6.8 ADIÇÃO DE PADRÃO

Os esgotos são caracterizados como uma matriz de extrema complexidade, onde inúmeras substâncias são encontradas dissolvidas ou em suspensão.

Os componentes presentes na matriz podem suprimir ou intensificar o sinal analítico do analito de interesse, interferir na pré-concentração, extração ou separação (EURACHEM GUIDE, 1998; PETROVIĆ *et al.*, 2005).

Para avaliar o efeito da matriz empregou-se a metodologia de adição de padrão. A utilização deste método permite uma melhor exatidão na determinação dos analitos.

Este método consiste na adição de quantidades conhecidas da substância de interesse a quantidades determinadas da amostra, antes do seu processamento.

As curvas analíticas construídas relacionam as áreas dos cromatogramas obtidos com as respectivas concentrações das amostras fortificadas. O ponto onde a reta corta o eixo das ordenadas corresponde à área do pico da substância que está sendo determinada, sem qualquer adição de padrão. A extrapolação da reta no eixo das abscissas corresponde à concentração da substância na amostra analisada (BERG, MURTA E KUGLER, 1988).

Embora o efeito de matriz seja bastante conhecido pelos analistas que trabalham com cromatografia, ainda há uma carência de trabalhos sobre este assunto na literatura, principalmente em português (PINHO *et al.*, 2009). Muitos

trabalhos desconsideraram o efeito de matriz em seus resultados, devido a dificuldade e ao elevado tempo disposto na sua avaliação.

Uma desvantagem na utilização do método de adição de padrão como ferramenta para análise do efeito de matriz, é que para cada amostra é necessária nova avaliação (PINHO *et al.*, 2009).

Desta forma, o efeito de matriz foi avaliado com os cartuchos Bond Elut® 500 mg/5 mL, apenas para amostras coletadas da ETE A.

Verificou-se a recuperação em amostras em triplicata de esgoto afluentes e efluente fortificadas com o diclofenaco e o ibuprofeno em três diferentes níveis de concentração: 0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Visto que o padrão da substância adicionada não está, necessariamente na mesma forma que a presente na amostra, e isto pode implicar, por exemplo, em uma intensificação do sinal analítico, limitando o procedimento (RIBANI *et al.*, 2004), após a fortificação e antes da EFS, as amostras foram submetidas ao processo de envelhecimento por 24 horas para aumentar a interação dos padrões com os componentes da matriz.

3.7 OUTRAS AVALIAÇÕES

3.7.1 ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO

As soluções de trabalho foram obtidas a partir de uma solução-padrão de 100 mg L^{-1} de diclofenaco e de ibuprofeno. Para isto, pesou-se em balança analítica 1,0 mg de padrão de diclofenaco e 1,0 mg de padrão de ibuprofeno (ambos com pureza mínima de 98%, adquiridos da Sigma Aldrich), e diluiu-se os compostos separadamente em 10 mL de metanol. Estas soluções foram armazenadas em frascos cobertos com papel alumínio e mantidos a -10 °C.

A estabilidade das soluções de trabalho foi avaliada após 15 e 30 dias do preparo, em dois níveis de concentração: 0,300 mg L^{-1} e 1,25 mg L^{-1} , e o limite de

variação entre os resultados foi determinado em 5%, conforme estabelecido pela ANVISA (2003), como limite de variação da precisão, para determinação de fármacos.

3.7.2 ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS DE ESGOTO

A percolação das amostras de esgoto através dos cartuchos para EFS ocorreu em até 72 h após as coletas. No entanto, verificou-se a estabilidade de amostras fortificadas com $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos de interesse, armazenadas sob refrigeração e com a adição de metanol. As análises foram realizadas em duplicata, 15 dias após a coleta.

Os cartuchos que continham as amostras foram mantidos a -10°C e ao abrigo da luz por até um mês.

3.7.3 ESTABILIDADE DOS EXTRATOS DAS AMOSTRAS DE ESGOTOS

Os extratos das amostras de esgoto foram injetados em no máximo 15 dias após a extração. No entanto, a estabilidade dos extratos foi determinada em duplicata 30 dias após o processamento. Durante o período de estocagem, estes foram mantidos a -10°C e ao abrigo da luz.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO

Diversos métodos cromatográficos por CLAE foram previamente considerados objetivando a determinação simultânea de diclofenaco e ibuprofeno. Dentre os vários sistemas solventes empregados, selecionou-se como fase móvel uma solução constituída de água ultrapura, acetonitrila, (ACN) e trietilamina (TEA), (77,7, 22,2 e 0,1%), ajustada a pH 5,9 denominada solução A, baseada na metodologia descrita por Pedroso *et al.*, 2011. Este método cromatográfico operou no modo isocrático, com vazão de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e foi denominado como método cromatográfico 1.

Para a validação dos parâmetros analíticos, obteve-se uma separação cromatográfica com os sinais resolvidos em apenas 15 min. O tempo de retenção do diclofenaco e do ibuprofeno foi de aproximadamente 8,0 min e 12,0 min respectivamente (FIGURA 18).

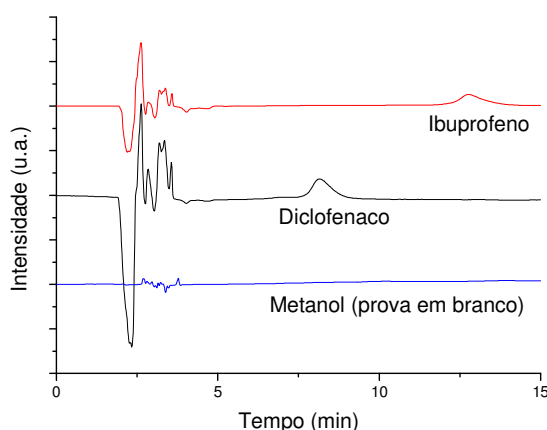


FIGURA 18 - CROMATOGRAMA DO DICLOFENACO E O DO IBUPROFENO NA CONCENTRAÇÃO DE 1 mg L^{-1} COM MÉTODO CROMATOGRÁFICO 1
FONTE: O AUTOR

No entanto, para a determinação dos analitos nas amostras de esgotos, água recuperada pela URA e água de rio, a corrida cromatográfica de 15 min e no modo

isocrático não propiciou resolução adequada dos compostos de interesse devido a elevada interferência de matriz.

O ajuste da força cromatográfica e seletividade da fase móvel podem permitir a resolução dos picos cromatográficos (SILVA E COLLINS, 2011). Assim, com o objetivo de melhorar os picos do diclofenaco e do ibuprofeno, elevou-se o tempo de corrida e foram testadas diferentes proporções na fase móvel por eluição gradiente, com a solução A e ACN. Os testes foram realizados diretamente em amostras processadas de esgoto não fortificado seguida pela reinjeção da mesma amostra fortificada.

Após diversas análises, determinou-se o método cromatográfico 2, com duração de 60 min para a determinação do diclofenaco. A avaliação do ibuprofeno em amostras reais foi possível apenas nas amostras de água para consumo humano fornecida pelo sistema de abastecimento e nas amostras de água de rio a montante e jusante da ETE A. A proporção dos solventes empregados na fase móvel por gradiente, por meio do método cromatográfico 2 é apresentada na Figura 19.

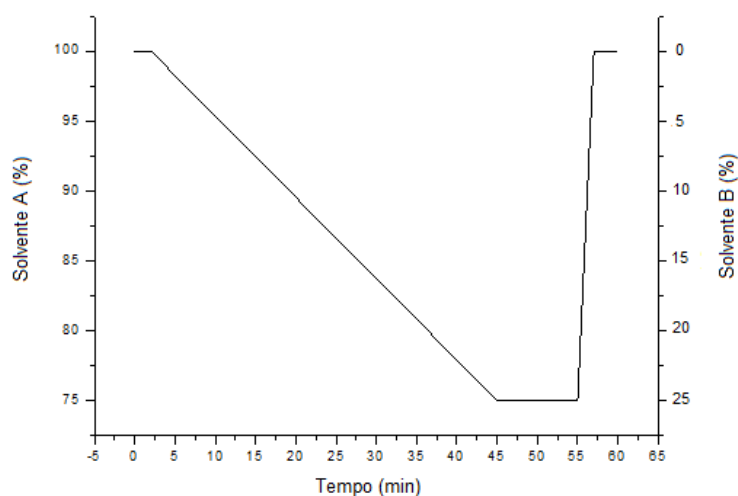


FIGURA 14 - MÉTODO CROMATOGRÁFICO 2 - EMPREGADO NA DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS EM AMOSTRAS REAIS

NOTA: SOLVENTE A: ACETONITRILA, ÁGUA E TRIETILAMINA (22,2:77,7:0,1); SOLVENTE B: ACETONITRILA

FONTE: O AUTOR

Os tempos de retenção para o diclofenaco e o ibuprofeno no método cromatográfico 2 foram de 36 min e 43 min respectivamente, e seus perfis cromatográficos estão apresentados na Figura 20.

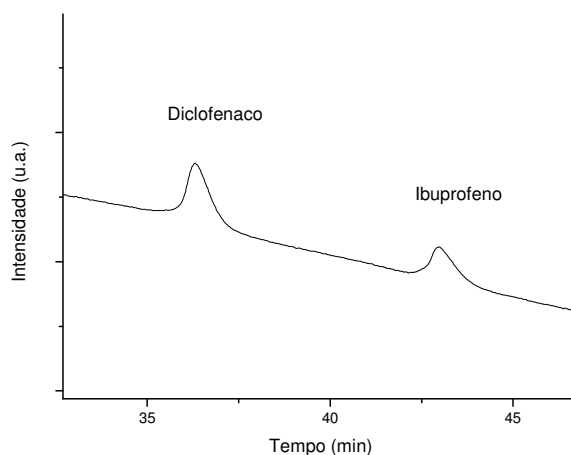


FIGURA 15 - PERFIL CROMATOGRÁFICO DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO NA CONCENTRAÇÃO DE 1mg L^{-1} COM O MÉTODO CROMATOGRÁFICO 2
FONTE: O AUTOR

Através do espectro de absorção no UV, determinou-se que o comprimento de onda de absorção máxima para o diclofenaco e o ibuprofeno é de 205 nm. Desta forma, as determinações foram realizadas neste comprimento de onda.

4.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO E DE EXTRAÇÃO

4.2.1 LINEARIDADE

A faixa de trabalho empregada na validação dos parâmetros analíticos foi determinada baseando-se nos valores de concentração encontrados na literatura para o diclofenaco e o ibuprofeno e na capacidade de detecção do equipamento para os fármacos analisados.

Foram construídas curvas analíticas em concentrações a partir de $0,02\text{ mg L}^{-1}$. No entanto, a falta de repetibilidade no sinal cromatográfico observada para o diclofenaco em $0,03\text{ mg L}^{-1}$ e $0,05\text{ mg L}^{-1}$ para o ibuprofeno determinou que o ponto inicial das curvas analíticas fosse estabelecido em $0,05\text{ mg L}^{-1}$ para o diclofenaco e $0,075\text{ mg L}^{-1}$ para o ibuprofeno.

Desta forma, a faixa de trabalho empregada contemplou a faixa de concentração entre 0,05 mg L⁻¹ a 1,25 mg L⁻¹ para o diclofenaco e 0,075 mg L⁻¹ a 1,25 mg L⁻¹ para o ibuprofeno. As curvas analíticas construídas apresentaram coeficiente de correlação acima de 0,99, que corresponde ao valor mínimo recomendado pela ANVISA (2003). Este valor é considerado adequado, pois o coeficiente de correlação demonstra que a resposta do detector apresenta-se linear nos valores de concentração empregados neste estudo, conforme pode ser observado na Figura 21.

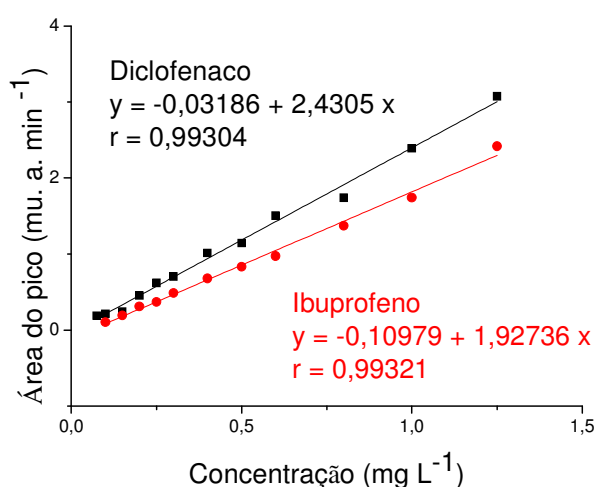


FIGURA 161 - CURVAS ANALÍTICAS DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO, COM CONCENTRAÇÃO ATÉ 1,25 mg L⁻¹

y = AP = ÁREA DO PICO

x = CA = CONCENTRAÇÃO ANALÍTICA DO DICLOFENACO OU DO IBUPROFENO

FONTE: O AUTOR

No entanto, a avaliação do diclofenaco em amostras de esgotos demonstrou valores que não são cobertos pela faixa de trabalho empregada. Desta forma foram construídas novas curvas analíticas com valores de concentração mais elevados para os analitos de interesse (0,05 mg L⁻¹ a 7,00 mg L⁻¹ para o diclofenaco e 0,075 mg L⁻¹ a 7 mg L⁻¹ para o ibuprofeno) para verificar se a linearidade ainda era mantida, embora relações não-lineares também sejam aceitas (THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002; ANVISA, 2003).

Estas novas curvas analíticas também se mantiveram com r acima de 0,99, o que oferece adequada linearidade para posterior interpolação dos dados experimentais (FIGURA 22).

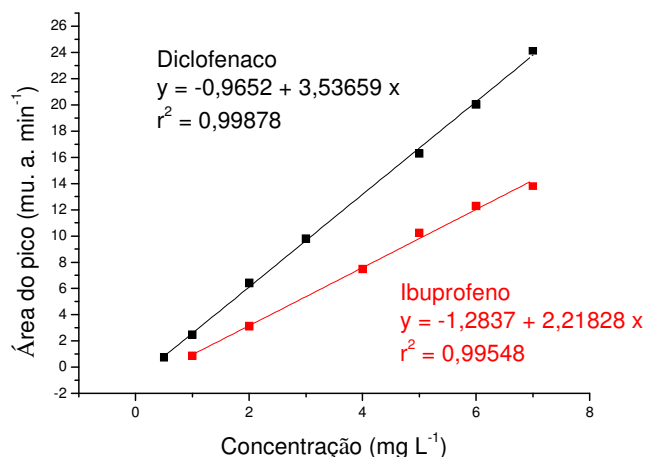


FIGURA 172 - CURVAS ANALÍTICAS DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO, COM CONCENTRAÇÃO ATÉ 7,00 mg L⁻¹

y = AP = ÁREA DO PICO

x = CA = CONCENTRAÇÃO ANALÍTICA DO DICLOFENACO OU DO IBUPROFENO

FONTE: O AUTOR

4.2.2 LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO

Conforme visto anteriormente, o LD pode ser determinado por três formas diferentes: método visual, método relação sinal-ruído e no método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004).

Neste trabalho o LD foi determinado pelo método visual, por meio da análise de cromatogramas obtidos com concentrações decrescentes de diclofenaco e ibuprofeno e pelo método baseado em parâmetros da curva analítica.

O LD para o diclofenaco e o ibuprofeno pelo método baseado em parâmetros da curva analítica foi de 0,013 mg L⁻¹ e 0,052 mg L⁻¹, respectivamente.

No entanto, na determinação pelo método visual do LD para o diclofenaco verificou-se um valor um pouco maior, de 0,03 mg L⁻¹. Para o ibuprofeno o LD encontrado pelo método visual esteve na mesma ordem de grandeza quando comparado ao valor obtido pelo método baseado na curva analítica: 0,05 mg L⁻¹.

Segundo a ANVISA (2003), o LD corresponde à menor concentração de um analito que o procedimento consegue diferenciar confiavelmente do ruído de fundo. Desta forma empregou-se o LD determinado pelo método visual.

Com a aplicação do fator de pré-concentração para 500 mL de amostra (3333 X) o LD para o diclofenaco é de 9 ng L^{-1} e para o ibuprofeno 15 ng L^{-1} . Para a percolação de amostras de 2 L, o fator de pré-concentração de 13333 X permite a obtenção de um LD de 2 ng L^{-1} para o diclofenaco e para o ibuprofeno 4 ng L^{-1} .

4.2.3 LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO

O LQ pode ser determinado da mesma forma que o LD, porém com precisão e exatidão adequadas sob as condições estabelecidas.

Na avaliação do LQ pelo método baseado na curva analítica, os valores encontrados para o diclofenaco e o ibuprofeno são $0,043 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,17 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente.

A ANVISA (2003) afirma que o pico da resposta no LQ deve ser identificável e reproduzível com precisão de 20%. Quando se emprega esta definição para determinar o LQ pelo método visual, se estabelece a concentração de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,075 \text{ mg L}^{-1}$ como LQ para o diclofenaco e o ibuprofeno.

Os valores de LQ encontrados para o diclofenaco estão na mesma ordem de grandeza para as duas metodologias analisadas. No entanto, para o ibuprofeno, o valor de LQ encontrado pelo método baseado na curva analítica encontra-se muito acima do obtido pelo método visual.

Uma vez que além da ANVISA (2003), o INMETRO (2003) e a IUPAC (THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002) consideram o LQ como a menor concentração que pode ser quantitativamente determinada com valores aceitáveis de exatidão e precisão, os valores de LQ obtidos por meio do método visual foram adotados neste trabalho.

Com a aplicação do fator de pré-concentração obtido na percolação de 500 mL de amostra (3333 X), o LQ para o diclofenaco é de 15 ng L^{-1} , e

para o ibuprofeno 22 ng L^{-1} . A aplicação do fator de pré-concentração na percolação de 2 L de amostra (13333 X) permitiu a obtenção de um LQ do diclofenaco de 4 ng L^{-1} e do ibuprofeno de 6 ng L^{-1} .

Os valores de LQ encontrados para os fármacos estão próximos aos valores relatados por outros estudos que utilizam instrumentação semelhante. Montagner e Jardim (2011), relataram um LQ para o diclofenaco de 46 ng L^{-1} e para o ibuprofeno 170 ng L^{-1} para a determinação destes fármacos em amostras de rio. Santos, Aparício e Alonso (2006), encontraram para o diclofenaco e o ibuprofeno um LQ de $0,93 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e $3,20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente; para a avaliação destes fármacos em amostras de esgoto afluente e um LQ de $0,47 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para o diclofenaco e $1,60 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para o ibuprofeno em amostras de esgoto efluente.

4.2.4 PRECISÃO

Como descrito no item 3.5.4, a precisão foi avaliada por determinação do analitos em triplicata de amostras contendo os fármacos em dois níveis de concentração. Nestas condições (FIGURA 23), o estudo de repetibilidade mostrou coeficientes de variação (CVs) entre 1,7% e 3,5%, enquanto que nos estudos de precisão intermediária observaram-se CVs entre 4,4% e 18,1%, sendo o maior valor de CV para o padrão de ibuprofeno, no nível de concentração mais elevado ($1,25 \text{ mg L}^{-1}$).

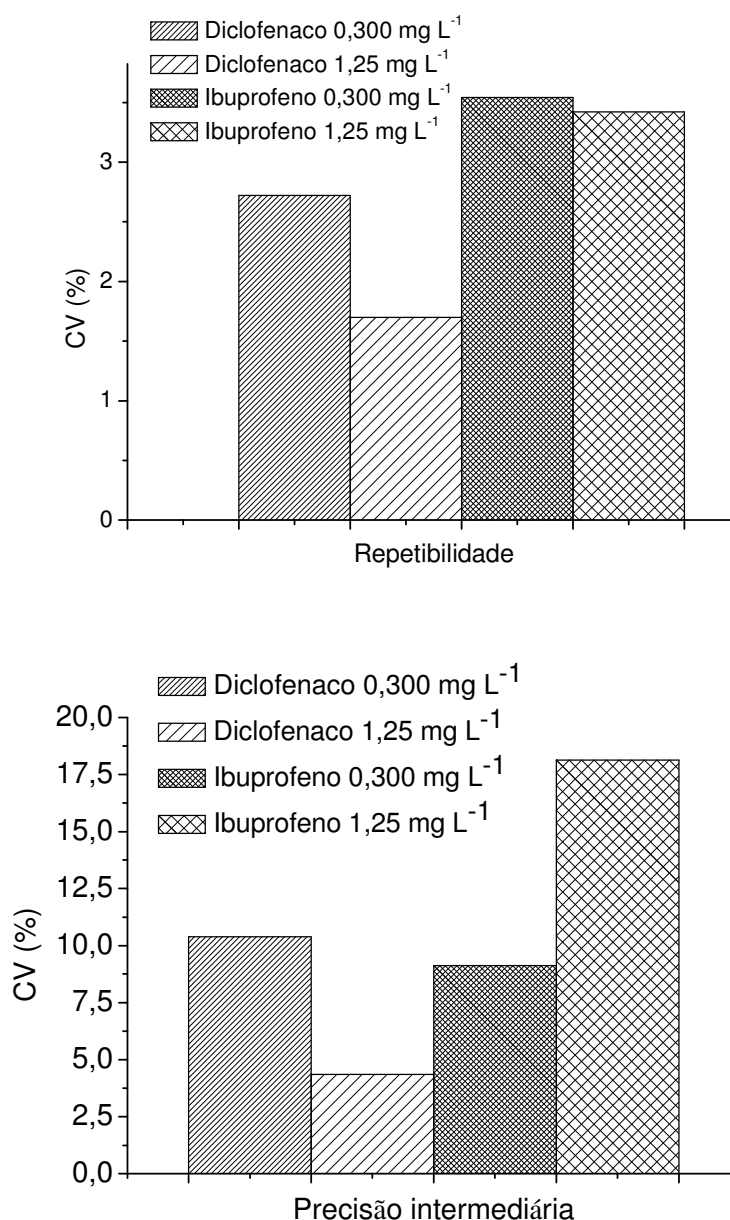


FIGURA 23 - PRECISÃO NA DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO NAS CONCENTRAÇÕES DE 1,250 mg/L E 0,300 mg/L, AVALIADA MEDIANTE OS COEFICIENTES DE VARIAÇÃO PARA REPETIBILIDADE E PRECISÃO INTERMEDIÁRIA
 FONTE: O AUTOR

Na análise da precisão, a ANVISA (2003) não admite valores superiores a 5% para a determinação de fármacos em medicamentos. No entanto, para amostras complexas se aceita um CV de até 15%. Já o INMETRO (2003) admite um CV de 20% na análise deste parâmetro.

Neste trabalho os valores de CV para análise da repetibilidade e precisão intermediária estiveram abaixo do limite estabelecido (20%), sendo desta forma o método considerado preciso.

4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO

4.3.1 FASES ADSORVENTES PARA EXTRAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO

Para a avaliação do método cromatográfico, realizada com água ultrapura, empregou-se os cartuchos Strata X[®] e Bond Elut[®] 500 mg/6 mL. Na avaliação da maioria dos parâmetros, os cartuchos Bond Elut[®] mostraram resultados iguais ou superiores aos Strata X[®] com relação a recuperação dos analitos ou a repetibilidade dos resultados obtidos.

Esta vantagem dos cartuchos Bond Elut[®] pode estar relacionada com a quantidade de fase estacionária, visto que estes cartuchos apresentam maior massa de sorvente (500 mg), e consequentemente maior número de sítios ativos para interação com os analitos.

A análise de amostras de esgotos demonstrou elevado efeito de matriz nas amostras percoladas com os cartuchos Bond Elut[®], que impossibilitou a avaliação do ibuprofeno.

Desta forma foram feitos testes com os cartuchos Strata X[®] e Oasis HLB[®] para recuperação de diclofenaco e ibuprofeno em amostras de esgotos. Porém estes cartuchos também não promoveram resultado adequado na determinação do ibuprofeno, e assim não foram empregados na avaliação de amostras reais. É importante salientar que os cartuchos foram utilizados apenas uma vez para cada amostra de esgoto, visto que estes materiais podem apresentar baixa reprodutibilidade em amostras de elevada complexidade.

4.3.2 CAPACIDADE DOS CARTUCHOS PARA ESGOTO AFLUENTE

Os cartuchos para EFS empregados neste estudo apresentam diferentes quantidades de adsorvente e de volume, que podem influenciar na capacidade de percolação dos mesmos.

O tempo necessário para percolação também é um fator determinante na escolha do cartucho, considerando-se o elevado número de amostras.

A avaliação da capacidade dos cartuchos para percolação de amostras de esgoto afluyente demonstrou que os cartuchos Bond Elut[®] 200 mg/3 mL permitem a eluição de apenas 300 mL de esgoto afluyente, demandando grande quantidade de tempo para esta ação (Tabela 12). Em função deste fato, estes cartuchos não foram empregados em nenhum outro parâmetro deste estudo.

TABELA 12 - CAPACIDADE DE PERCOLAÇÃO DE ESGOTO AFLUENTE DOS CARTUCHOS PARA EFS

Cartucho para EFS	Número de amostras	Volume percolado (mL)	Tempo (h)	Coefficiente de variação (%)
Strata X [®] 200 mg/3 mL	3	300	4	40
Oasis HLB [®] 200 mg/6 mL	1	400	3	-
Bond Elut [®] 200 mg/3 mL	3	300	5	30
Bond Elut [®] 500 mg/6 mL	3	500	2	4

FONTE: O AUTOR

Os cartuchos Bond Elut[®] 500 mg/6 mL, permitiram o maior volume de percolação em menor tempo, e foram escolhidos para determinação dos fármacos nas amostras de esgoto.

As significativas diferenças observadas na presença de material particulado entre as amostras coletadas em dias diferentes impossibilitou a padronização da vazão de percolação e da pressão empregada na bomba a vácuo.

No entanto, para permitir a interação dos analitos de interesse com o adsorvente, sem elevada demanda de tempo, procurou-se obter uma vazão entre 4,0 a 7,0 mL min⁻¹.

4.3.3 INFLUÊNCIA DO pH

As recuperações em água ultrapura das amostras com pH 4, natural do esgoto (entre 6,5 a 7) e 8, fortificadas com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco e ibuprofeno variaram entre 81 e 107% com os cartuchos Bond Elut[®] 500 mg/6 mL e Strata X[®] 200 mg/3 mL (TABELA 13). Todos os valores encontraram-se dentro do recomendado pela ANVISA (2003), que afirma que a concentração experimental deve estar entre 80 a 120% da concentração teórica.

TABELA 13 - RECUPERAÇÕES DOS CARTUCHOS BOND ELUT[®] E STRATA X[®] EM DIFERENTES VALORES DE pH

Cartucho/pH da amostra	Recuperação do Diclofenaco (%)	Coefficiente de variação (%)	Recuperação do Ibuprofeno (%)	Coefficiente de variação (%)
Bond Elut [®] /4	98	2,5	87	6,8
Strata X [®] /4	96	4,6	95	4,4
Bond Elut [®] /natural	106	3,9	92	2,4
Strata X [®] /natural	94	11,3	81	11,9
Bond Elut [®] /8	102	5,1	86	5,3
Strata X [®] /8	103	3,6	107	0,5

FONTE: O AUTOR

A acidificação da amostra pode diminuir a dissociação dos analitos ácidos, e assim aumentar a eficiência da extração devido a interação mais forte dos íons não dissociados, ou seja, na forma molecular com o adsorvente do cartucho (PETROVIĆ *et al.*, 2005).

No entanto, os resultados estão de acordo com os obtidos por Liu, Zhou e Wilding (2004), que mostram que a recuperação para compostos levemente ácidos continua a ser elevado e relativamente semelhante em pH ácido ou básico.

Desta forma, os testes seguintes foram realizados com os cartuchos Bond Elut[®] no pH natural do esgoto, visto que estes apresentaram recuperação adequada, um baixo CV e evita-se o aumento do erro associado ao método pela modificação deste parâmetro. Outras vantagens da utilização dos cartuchos Bond Elut[®] no pH natural do esgoto é eliminação da etapa de manipulação adicional da amostra para alteração do pH; que é especialmente importante na aplicação do método às amostras de esgotos, uma vez que estas são caracterizadas como uma matrizes de alto risco biológico, além de aspectos econômicos, que favorecem o emprego destes cartuchos.

4.3.4 VOLUMES DE AMOSTRA

As recuperações para os cartuchos Bond Elut[®] 500 mg/6 mL e Strata X[®] com diferentes volumes de água ultrapura variaram entre 47 e 118%.

Embora as recuperações obtidas para os cartuchos Strata X[®] estejam dentro da faixa que pode ser aceita de acordo com Brito *et al.* (2003), entre 40% a 120%, estes apresentaram baixa reprodutibilidade conforme apresentado na Tabela 14, e não foram empregados no testes subsequentes.

TABELA 14: RECUPERAÇÕES DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO EM DIFERENTES VOLUMES DE ÁGUA ULTRAPURA

Cartucho	Volume da amostra de água					
	200 mL		300 mL		500 mL	
	Recuperação do Diclofenaco (%) / CV* (%)	Recuperação do Ibuprofeno (%) / CV* (%)	Recuperação do Diclofenaco (%) / CV* (%)	Recuperação do Ibuprofeno (%) / CV* (%)	Recuperação do Diclofenaco (%) / CV* (%)	Recuperação do Ibuprofeno (%) / CV* (%)
Bond Elut [®]	86 ± 10	107 ± 22	97 ± 4	118 ± 8	108 ± 19	113 ± 2
Strata X [®]	60 ± 21	47 ± 72	106 ± 16	109 ± 24	131 ± 8	66 ± 106

FONTE: O AUTOR

*CV: COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

Apesar de volumes menores de água terem apresentado uma recuperação satisfatória para os cartuchos Bond Elut[®], devido a baixa concentração que os analitos encontram-se nas amostras reais, da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , e para intensificar o sinal dos analitos no método analítico, optou-se pela utilização dos volumes maiores de amostra.

4.3.5 VOLUME DE RECONSTITUINTE

As recuperações dos analitos obtidos com os dois volumes de amostra (300 mL e 500 mL) e os dois volumes de reconstituente (150 μL e 300 μL de metanol) se encontraram próximos ao valor recomendado pela ANVISA (2003), entre 80% a 120% da concentração teórica (Tabela 15).

TABELA 15: RECUPERAÇÕES DO DICLOFENACO E DO IBUPROFENO COM DIFERENTES VOLUMES DE AMOSTRA E DE RECONSTITUINTE

Volume de amostra (mL)	Volume de reconstituente (µL)	Recuperação (%)/coeficiente de variação (%)	
		Diclofenaco	Ibuprofeno
300	150	127 ± 8	118 ± 15
	300	98 ± 3	92 ± 22
500	150	119 ± 6	126 ± 6
	300	100 ± 4	96 ± 5

FONTE: O AUTOR

Embora as recuperações obtidas com os menores valores de reconstituente possam estar acima do percentual recomendado pela ANVISA (2003), a IUPAC (THOMPSON, ELLISON E WOOD, 2002) afirma que a recuperação pode estar entre 50% a 150% do valor esperado.

Com o objetivo de obter um maior fator de concentração, empregou-se o volume de amostra de 500 mL e volume de reconstituente de 150 µL. Desta forma, no procedimento proposto obteve-se um fator de concentração de 3333 X.

4.3.6 CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS

A dispersão dos resultados pode aumentar com a diminuição da concentração, e a recuperação pode diferir substancialmente quando altas e baixas concentrações são utilizadas (RIBANI *et al.*, 2004). No entanto, na avaliação deste parâmetro dentro da faixa de concentração avaliada e com 500 mL de amostra, as porcentagens de recuperação variaram de 91 a 106% (Tabela 16).

TABELA 16 - RECUPERAÇÕES OBTIDAS NA AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS

Concentração dos analitos (µg L ⁻¹)	Recuperação do diclofenaco (%)	Coeficiente de variação (%)	Recuperação do ibuprofeno (%)	Coeficiente de variação (%)
10	106	6,6	98	7,2
0,5	98	7,4	99	3,5
0,1	91	11,7	96	8,2

FONTE: O AUTOR

4.3.7 DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE QUEBRA

O aumento do volume de amostra pode causar perda dos analitos de interesse por lixiviação. De acordo com a Tabela 17, observa-se uma tendência à diminuição da recuperação relacionada ao aumento do volume de amostra, mas nos volumes avaliados os valores de recuperação obtidos se encontraram acima de 90%.

TABELA 17 - AVALIAÇÃO DO VOLUME DE QUEBRA PARA OS CARTUCHOS BOND ELUT[®] EM ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO FORNECIDA PELO SISTEMA DE ABASTECIMENTO

Fármaco	Recuperação (%)							
	500 mL	CV* (%)	1,0 L	CV* (%)	1,5 L	CV* (%)	2,0 L	CV* (%)
Diclofenaco	108	19	110	4	98	9	93	8
Ibuprofeno	113	2	95	8	90	8	92	11

FONTE: O AUTOR

*CV: COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

Desta forma o volume de quebra para os analitos, com os cartuchos Bond Elut[®] 500 mg e nos volumes de amostra analisados não foi atingido.

É importante salientar que este parâmetro foi avaliado em amostras de água tratada, que são livres de partículas coloidais. Amostras de esgotos podem conter diversas substâncias que podem interferir na recuperação.

As recuperações obtidas com o elevado volume de amostra podem ser explicadas pela grande quantidade de adsorvente contida nos cartuchos estudados (500 mg), que possuem um elevado número de sítios ativos.

4.3.8 ADIÇÃO DE PADRÃO

Embora o método cromatográfico proposto permita a eficiente determinação de ambos os fármacos em amostras com baixos níveis de interferentes, o efeito de matriz associado à complexidade das amostras de esgoto dificulta a determinação dos analitos de interesse, principalmente em razão da presença de espécies

químicas que absorvem na região ultravioleta, as quais não são eliminadas durante o processo de pré-concentração.

Como pode ser observado na Figura 24, a complexidade do sinal cromatográfico é evidente. No entanto existem sinais que sugerem a presença de diclofenaco. Por outro lado, a presença de ibuprofeno não pode ser confirmada, em razão da presença de intensos sinais referentes à matriz de esgoto, os quais impossibilitam a integração dos sinais referentes a este fármaco.

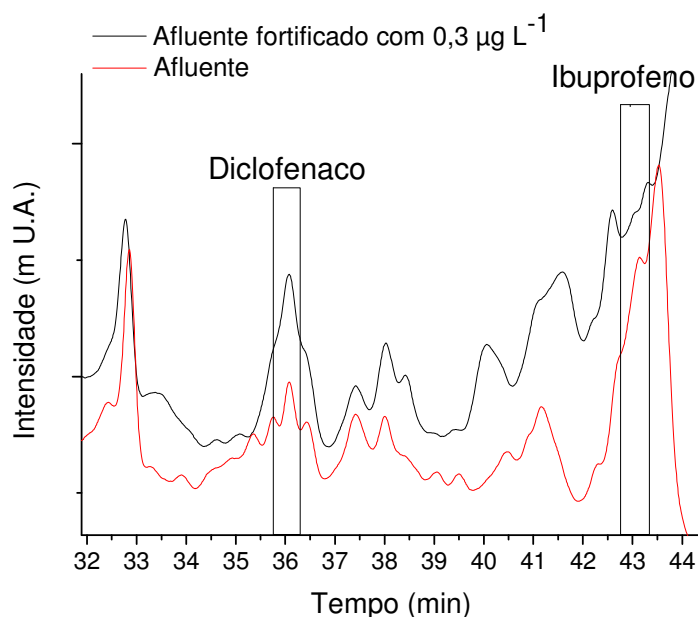


FIGURA 24 - CROMATOGRAMAS DE AMOSTRAS DE ESGOTO AFLUENTE NATURAL E FORTIFICADO COM $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$
 FONTE: O AUTOR

Desta forma, são apresentados apenas os resultados do ensaio de recuperação do diclofenaco a partir de amostras fortificadas com 100, 200 e 300 ng L^{-1} (submetidas a pré-concentração de 3333 X), assim como a concentração calculada por interpolação em curva analítica externa e pelo sistema de adição de padrão (TABELA 18).

TABELA 18: RECUPERAÇÃO DE DICLOFENACO A PARTIR DE AMOSTRAS DE ESGOTO AFLUENTE E EFLUENTE POR INTERPOLAÇÃO DIRETA NA CURVA ANALÍTICA E PELO SISTEMA DE ADIÇÃO DE PADRÃO

Amostra	Concentração encontrada (ng L ⁻¹)	Coefficiente de variação (%)	Recuperação (%)	Coefficiente de variação (%)
Afluente (branco)*	417	8,45	-	-
100 ng L ⁻¹ *	78	7,38	78	9,82
200 ng L ⁻¹ *	163	6,75	81,5	7,06
300 ng L ⁻¹ *	353	5,40	118	12,45
Afluente**	247	-	-	-
Efluente (branco)*	888	7,03	-	-
100 ng L ⁻¹ *	62	5,93	62	9,25
200 ng L ⁻¹ *	172	4,6	86	8,9
300 ng L ⁻¹ *	348	4,94	116	15,82
Efluente**	470	-	-	-

*Interpolação direta; **sistema de adição de padrão

FONTE: O AUTOR

Em casos em que a complexidade da matriz impede a calibração com padrões de natureza química similar, o método de adição de padrão costuma minimizar as interferências, permitindo determinações mais fidedignas. Neste caso, o método permitiu a determinação de concentrações de 247 ng L⁻¹ para as amostras de afluente e de 470 ng L⁻¹ para amostras de efluente, valores que, em geral, são compatíveis com os resultados relatados na literatura recente (STUMPF *et al.*, 1999; THOMAS E FOSTER, 2005; YING, KOOKANA E KOLPIN, 2009; BEHERA *et al.*, 2011).

É importante reiterar que, em razão do já comentado efeito de matriz, a concentração obtida por interpolação direta nas curvas analíticas externas pode ser objeto de significativos erros positivos e negativos, decorrentes de interferência que dificulta a integração de sinal. O referido efeito de matriz fica evidenciado nos resultados observados no estudo de recuperação realizado com amostras fortificadas de esgoto afluente e efluente quando comparados aos valores de concentração obtidos por meio do sistema de interpolação direta (Tabela 18), em que foram observados diminuições de aproximadamente 40% e 50% com o sistema de quantificação por adição de padrão.

Os resultados de concentração para o esgoto afluente e efluente obtidos no ensaio de adição de padrão apresentam uma grande diferença numérica com os obtidos em curva analítica externa. No entanto os valores se encontram dentro da mesma ordem de magnitude, visto que são referentes a concentrações muito pequenas, da ordem de ng L⁻¹.

Poucos trabalhos relatam a realização de ensaios de recuperação a partir de matrizes complexas, praticamente ignorando o efeito de matriz; não existe um consenso a respeito deste efeito e a quantificação dos analitos de interesse geralmente é realizada apenas por interpolação direta.

Desta forma, devido às dificuldades inerentes a análise pelo sistema de adição de padrão, a quantificação do diclofenaco nas outras amostras de esgoto afluente e efluente não foram realizadas por este sistema de calibração.

4.4 OUTRAS AVALIAÇÕES

4.4.1 ESTABILIDADE DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO

A avaliação da estabilidade dos padrões em termos de tempo e temperatura é essencial para garantir a geração de resultados confiáveis e reprodutíveis (RIBANI *et al.*, 2004). Durante o período analisado (15 e 30 dias após o preparo das soluções de trabalho), a variação da concentração do diclofenaco e do ibuprofeno nos dois níveis de concentração (0,300 e 1,25 mg L⁻¹) esteve abaixo de 5%. Assim, a estabilidade das soluções de trabalho foi garantida pelo período de um mês, prazo dentro do qual estas foram utilizadas.

4.4.2 ESTABILIDADE DAS AMOSTRAS DE ESGOTO

As amostras de esgoto fortificadas percoladas 15 dias após a coleta não apresentaram diferença significativa com relação a concentração de diclofenaco, com variação abaixo de 10% das amostras percoladas inicialmente.

Além do tempo, outro fator importante na avaliação de amostras é a temperatura (RIBANI *et al.*, 2004). Durante o período de armazenagem as amostras foram mantidas sob refrigeração. No entanto, durante a manipulação das amostras (processo que pode levar até oito horas), estas foram deixadas a temperatura ambiente. Ainda assim verificou-se baixa variação nos resultados obtidos.

Desta forma, pode-se verificar a estabilidade de amostras de esgoto conservadas com metanol, armazenadas sob refrigeração e ao abrigo da luz para avaliação do diclofenaco, e a possibilidade de manipulação das amostras de esgoto mesmo após vários dias da coleta, visto que segundo Ribani *et al.*, 2004, tempos longos de estocagem de amostras complexas aumentam a probabilidade de degradação dos compostos de interesse, com subsequente formação de metabólitos. Conhecendo a estabilidade, as análises podem ser completadas antes de ocorrer a degradação.

A limitação do método cromatográfico para a determinação do ibuprofeno impossibilitou a análise da estabilidade para este fármaco.

4.4.3 ESTABILIDADE DOS EXTRATOS DAS AMOSTRAS DE ESGOTOS

Os extratos das amostras de esgotos reinjetados 30 dias após a extração apresentaram diferença abaixo de 5% na concentração de diclofenaco em relação aos resultados obtidos na primeira injeção, o que evidencia elevada estabilidade dos extratos armazenados a -10 °C e ao abrigo da luz.

A determinação de ibuprofeno não foi realizada devido a presença de intensos sinais referentes à matriz de esgoto, os quais impossibilitam a integração dos sinais referentes a este fármaco.

4.5 DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM AMOSTRAS DE ESGOTOS COLETADAS EM ETEs DA CIDADE DE CURITIBA-PR

Após a validação do método cromatográfico, este foi empregado na determinação de diclofenaco e ibuprofeno em matrizes aquosas.

A determinação de diclofenaco e ibuprofeno em amostras de esgoto afluente e efluente se mostrou extremamente complexa.

O elevado efeito de matriz prejudicou a resolução dos picos e impossibilitou a utilização do método cromatográfico 1, isocrático e com duração de 15 min (FIGURA 25).

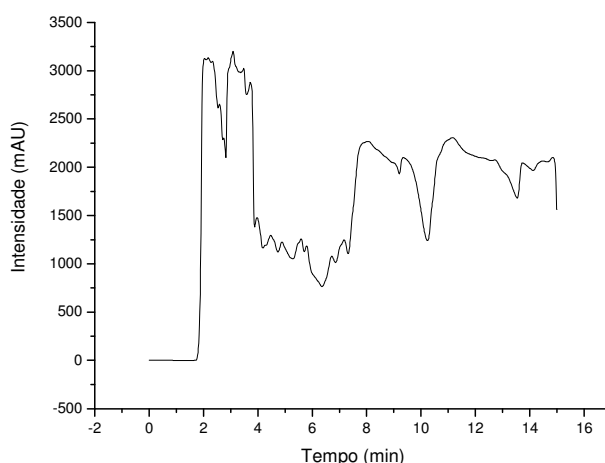


FIGURA 25 - CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ESGOTO AFLUENTE OBTIDO COM O MÉTODO CROMATOGRÁFICO DE 15 min
FONTE: O AUTOR

Desta forma diversos testes foram realizados na fase móvel objetivando a obtenção de um método cromatográfico que permitisse a determinação dos analitos.

O método cromatográfico 2, por gradiente e com duração de 60 min possibilitou a determinação apenas do diclofenaco com o cartucho Bond Elut[®] 500 mg/6 mL.

Desta forma, realizaram-se testes com os cartuchos Strata X[®] e Oasis HLB[®] visando melhorar o *clean up* das amostras, e assim propiciar a resolução do pico do ibuprofeno. No entanto, embora a determinação de diclofenaco também tenha sido possibilitada por estes cartuchos, a co-eluição de interferentes com forte sinal

analítico no tempo de retenção próximo ao do ibuprofeno impossibilitou a quantificação deste fármaco em todas as amostras de esgoto (FIGURA 26).

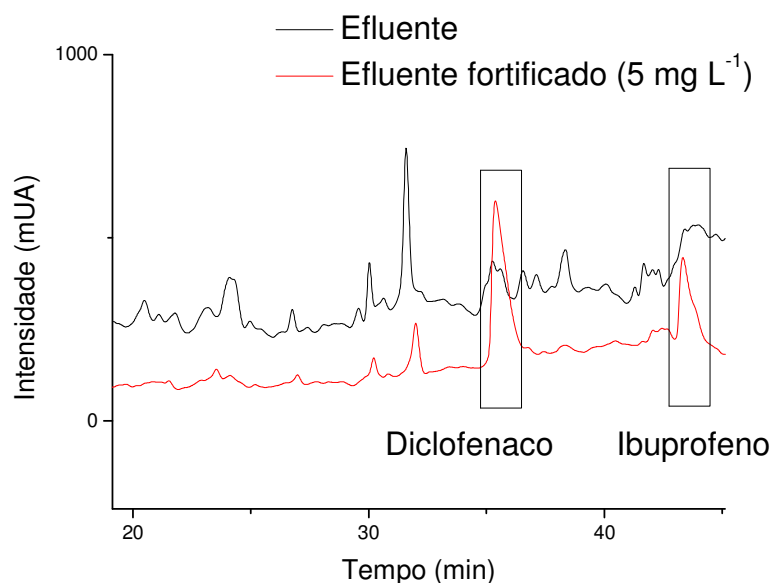


FIGURA 26 - CROMATOGRAMA DE AMOSTRA DE ESGOTO EFLUENTE QUE DEMONSTRA A INTERFERÊNCIA NO TEMPO DE RETENÇÃO PRÓXIMO AO DO IBUPROFENO
FONTE: O AUTOR

Segundo Petrović, Gonzales e Barceló (2003), uma das razões para a lacuna no conhecimento sobre a ocorrência de resíduos de fármacos no ambiente, é a dificuldade na obtenção de métodos analíticos que permitam a determinação de compostos em níveis traços em amostras de alta complexidade; evidenciada neste trabalho para a quantificação do ibuprofeno.

O diclofenaco foi encontrado nos esgotos de todas as ETEs avaliadas, e o padrão de ocorrência foi da mesma ordem de magnitude em todas as amostras (Tabela 19). A maior concentração determinada foi no efluente da campanha amostral 2 da ETE C (1505 ng L^{-1}), e a menor no afluente da campanha amostral 1 da ETE A (417 ng L^{-1}).

TABELA 19 - VALORES DAS CONCENTRAÇÕES OBTIDAS PARA O DICLOFENACO EM AMOSTRAS DE ESGOTO AFLUENTE E EFLUENTE, NAS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A, B E C

ETE	Campanha amostral	Concentração no afluente (ng L ⁻¹)	Coeficiente de variação (%)	Concentração no efluente (ng L ⁻¹)	Coeficiente de variação (%)
A	1	714	3,17	1330	14,28
	2	417	8,4	888	7,03
B	1	788	-	560	6,3
	2	426	10	696	-
C	1	1505	18	1174	10,5
	2	771	9,4	929	11,23

FONTE: O AUTOR

A presença de diclofenaco no afluente de todas as ETEs pode estar relacionada ao perfil de consumo de medicamentos da população, visto que um dos fatores que influenciam o potencial de uma droga atingir o ambiente é a quantidade consumida deste composto (HEBERER 2002b; METCALFE *et al.*, 2003), e o diclofenaco é um dos AINES mais utilizados.

Pelos resultados da Tabela 20, verifica-se que todas as amostras apresentaram uma concentração mais elevada para a primeira campanha amostral. Visto que as coletas foram realizadas com pluviosidade semelhante (no mínimo 72 h sem chuva antes de cada coleta), as diferenças podem ter ocorrido por as coletas terem sido realizadas em estações climáticas diferentes (HEBERER, 2002b; BOXALL, 2004; VIENO, TUHKANEN E KRONBERG, 2005).

As primeiras campanhas amostrais realizadas nas ETEs ocorreram nos meses de julho a agosto, período de inverno e de grande instabilidade climática, onde as temperaturas se encontram mais amenas e a população está mais suscetível a contrair doenças cujo diclofenaco pode ser indicado.

Outro fator que pode ter influenciado na maior quantidade de diclofenaco nas primeiras campanhas amostrais, é que a atividade bacteriana é menos favorecida em temperaturas mais baixas (CASTIGLIONI *et al.*, 2006).

Outro dado importante verificado é que houve um incremento na concentração de diclofenaco no efluente em relação à concentração do afluente na maioria das amostras, sendo o maior aumento da concentração observada na campanha amostral 1 da ETE A (113%) (TABELA 20).

TABELA 20 - RELAÇÃO NA CONCENTRAÇÃO AFLUENTE / EFLUENTE PARA O DICLOFENACO PARA AS ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A, B E C, NAS CAMPANHAS AMOSTRAIS 1 E 2

ETE	Campanha amostral	Relação na concentração afluente / efluente (%)
A	1	+86
	2	+113
B	1	- 29
	2	+63
C	1	- 22
	2	+20

FONTE: O AUTOR

A concentração mais elevada de diclofenaco encontrada no efluente pode estar relacionada com a baixa eficiência de remoção deste fármaco no tratamento de esgotos, também relatada em outros estudos (LINDQVIST, TUHKANEN E KRONBERG, 2005; ZORITA, MARTENSSON, E MATHIASSEN 2009; ROSAL *et al.*, 2010).

O aumento da carga de diclofenaco no efluente ocorre provavelmente, devido à desconjugação de conjugados glicuronídeos ou sulfatados e/ou à dessorção do diclofenaco de partículas sólidas (ZORITA, MARTENSSON, E MATHIASSEN, 2009).

O sistema de tratamento fundamentado por via aeróbia apresenta maior eficiência na remoção de matéria orgânica, quando comparado ao sistema fundamentado por via anaeróbia, que frequentemente necessita de pós-tratamento para complementar a remoção destes compostos, e pode ser superior na remoção de fármacos (STUMPF *et al.*, 1999, YING, KOOKANA E KOLPIN, 2009). No entanto, neste trabalho os dois sistemas de tratamento biológico não demonstraram diferenças com relação à eficiência na remoção do diclofenaco.

A baixa biodegradabilidade deste fármaco pelo sistema de lodos ativados (tratamento aeróbio) também foi verificada por Quintana, Weiss e Reemtsma (2005). Os autores não encontraram nenhuma eliminação deste fármaco com este sistema de tratamento de esgotos.

O incremento da remoção de fármacos pelo sistema de floculação e flotação foi avaliado em escala de bancada por Carballa, Omil e Lema (2005). Durante o ensaio de floculação, a eliminação de diclofenaco foi cerca de 70%, porém o ibuprofeno não foi eliminado por este processo. A flotação removeu entre 20 a 45% de diclofenaco e entre 10 a 25% de

ibuprofeno. Contrariamente a estes resultados, neste trabalho, o sistema de flotação empregado nas ETEs A e C, não se mostrou eficaz na remoção de diclofenaco. No entanto, é importante salientar que as avaliações foram realizadas em escala real.

Os valores de concentração encontrados para o diclofenaco no esgoto efluente são compatíveis com resultados reportados em trabalhos de natureza similar (STUMPF *et al.*, 1999; THOMAS E FOSTER, 2005; YING, KOOKANA E KOLPIN, 2009).

Contraditoriamente aos resultados obtidos, alguns estudos demonstram elevada remoção do diclofenaco, com o tratamento biológico (STUMPF *et al.*, 1999; THOMAS E FOSTER, 2005; YING, KOOKANA E KOLPIN, 2009).

Uma possível explicação para as diferentes eficiências de remoção encontradas para este fármaco são as condições em que ocorre o tratamento dos esgotos, assim como o projeto da ETE (THOMAS E FOSTER, 2005); visto que a remoção do diclofenaco é mais elevada em condições anóxicas, com pH ácido e elevada radiação solar (ZHANG, GEIBEN E GAL, 2008). Por sua vez, a redução do diclofenaco por degradação fotolítica dependerá também de alguns parâmetros adicionais, tais como condições eutróficas, grau de material particulado e ainda a profundidade do curso d'água (HEBERER, 2002a).

Visto que a remoção de diclofenaco em ETEs é bastante variável, sensível às diferenças no processo de tratamento, estudos futuros que contemplassem avaliações adicionais para determinação das condições ótimas para remoção deste fármaco seriam necessários para se obter uma conclusão mais precisa a respeito da remoção do diclofenaco.

4.6 DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO NO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA

A água recuperada na URA da ETE A apresentou-se bastante límpida e com pequena quantidade de material particulado, que tornou desnecessária a filtração destas amostras em microfiltro de fibra de vidro de 0,60 μm .

Segundo Franco (2010), o efluente de esgoto tratado pelos processos empregados nesta URA atende aos requisitos legais exigidos para águas recuperadas.

No entanto, os perfis cromatográficos das amostras do efluente recuperado pela URA se mostraram bastante semelhantes aos das amostras de esgotos, e existem sinais que demonstram que o diclofenaco não foi totalmente removido pelo processo de tratamento empregado nesta unidade (FIGURA 27).

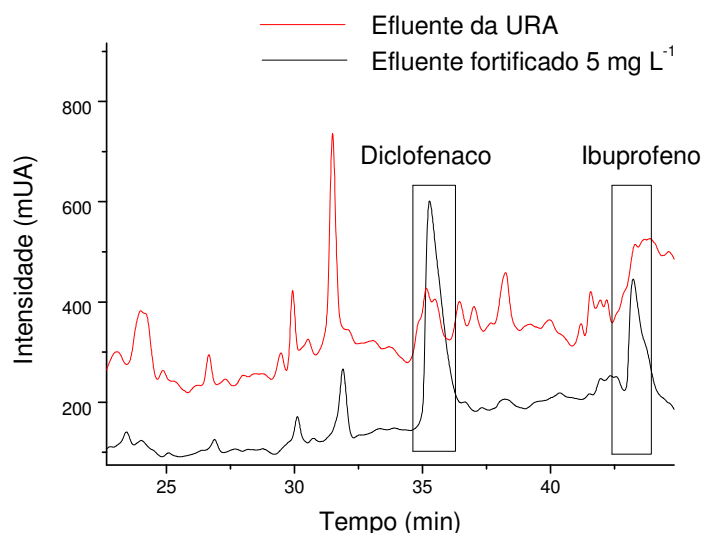


FIGURA 27 - CROMATOGRAMA DO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A

O diclofenaco foi determinado em todas as amostras coletadas na URA, e os valores de concentração encontrados para o fármaco na primeira campanha amostral são quase o dobro dos resultados obtidos para a segunda campanha amostral (TABELA 21).

TABELA 21 - CONCENTRAÇÕES DE DICLOFENACO NO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A

Campanha amostral	Concentração (ng L ⁻¹)	Coeficiente de variação (%)
1	674	8,16
2	353	6,28

FONTE: O AUTOR

Esta diferença entre a primeira e a segunda campanha amostral também foi observada para as amostras de esgotos, que foi considerada como proveniente do perfil de consumo, ou às características intrínsecas ao processo biológico, que é mais favorecido em temperaturas mais elevadas.

No entanto, no processo empregado na URA não é utilizado mecanismo biológico de tratamento. Desta forma, as diferenças observadas entre as coletas possivelmente está relacionada ao perfil de consumo de medicamentos por parte da população atendida pela ETEs pesquisadas, visto que as coletas na URA foram realizadas em estações climáticas diferentes (inverno e primavera), que apresentaram grandes variações na temperatura, favorecendo o consumo de diclofenaco no inverno.

Quando se compara os valores de concentração de diclofenaco encontrados no efluente da URA, com os obtidos no esgoto tratado, verifica-se uma redução na concentração de diclofenaco de 24% para a campanha amostral 1 e de 73% para a campanha amostral 2 (TABELA 22).

TABELA 22 - REDUÇÃO NA CONCENTRAÇÃO DE DICLOFENACO NO EFLUENTE DA UNIDADE DE RECUPERAÇÃO DE ÁGUA

Campanha amostral	Concentração de diclofenaco no efluente da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) A (ng L ⁻¹)	Concentração de diclofenaco no efluente da URA (ng L ⁻¹)	Redução (%)
1	888	674	24
2	1330	353	73

FONTE: O AUTOR

O principal processo de tratamento empregado pela URA é a ozonização. A degradação do diclofenaco por este sistema foi avaliada por Ternes *et al.* (2003), e foi verificada a remoção completa do fármaco com este tratamento. No entanto, as condições empregadas pelos autores são diferentes das adotadas na URA. A dose de ozônio utilizada é de 5 mg L⁻¹, o dobro da dose empregada na URA (2,4 mg L⁻¹) e o tempo de tratamento também é o dobro, correspondente a 18 min.

A remoção incompleta do diclofenaco apresentada pelo sistema empregado na URA demonstra a necessidade de otimização do tratamento e adequação quanto ao uso pretendido da água recuperada.

O efluente tratado pela URA demonstrou excelente remoção de material particulado, visto que a água recuperada apresentou-se bastante límpida. No entanto, assim como nas amostras de esgotos, o efeito de matriz provocou sérias interferências na resposta cromatográfica, o que inviabilizou a determinação de ibuprofeno no efluente tratado pela URA.

4.7 DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO E IBUPROFENO EM ÁGUA DE RIO

4.7.1 AMOSTRAS A MONTANTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A

A determinação de diclofenaco e ibuprofeno nas amostras de água de rio a montante da ETE A esteve abaixo do LD.

A região onde se realizou a coleta caracteriza-se como bastante populosa e urbanizada, e há indícios de lançamento de esgoto irregular (FRANCO, 2010).

A presença de contaminantes emergentes pode ser empregada como marcador químico na avaliação de corpos hídricos, no entanto, a não-detecção do diclofenaco e do ibuprofeno nas amostras a montante da ETE A não descarta o lançamento irregular de esgotos, visto que estes compostos podem estar altamente diluídos ou apresentar elevada instabilidade sob as condições do ambiente aquático em questão.

Desta forma, devem ser avaliados marcadores químicos de outras classes, como hormônios sexuais femininos ou cafeína na avaliação do corpo hídrico para comprovação ou não do lançamento irregular de esgotos.

4.7.2 AMOSTRAS A JUSANTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A

O diclofenaco foi detectado em todas as amostras 250 m a jusante da ETE A, com concentração máxima de 266 ng L⁻¹ (Tabela 23).

TABELA 23 - CONCENTRAÇÃO DE DICLOFENACO NAS AMOSTRAS DE ÁGUA DE RIO A JUSANTE DA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTOS A

Amostra	Concentração de diclofenaco (ng L ⁻¹)
1	266
2	148
3	182

FONTE: O AUTOR

Os valores de concentração encontrados para o diclofenaco estão na mesma ordem de magnitude aos quantificados por Montagner e Jardim (2011), em amostras do Rio Atibaia (SP), que recebe alta carga de esgoto ao longo de seu curso. Os valores encontrados pelos autores estão entre 96 a 115 ng L⁻¹.

A avaliação de riscos ambientais não é necessária para a aprovação de um fármaco para aplicação em seres humanos. Como consequência, dados ecotoxicológicos para a avaliação dos resíduos de drogas no ambiente aquático não estão suficientemente disponíveis (STUMPF *et al.*, 1999).

É importante salientar que, os estudos que avaliam a toxicidade ambiental geralmente utilizam testes de ecotoxicidade padrão, os quais muitas vezes são de curta duração e se concentram predominantemente na mortalidade como o ponto final. Em geral, os efeitos observados nestes estudos ocorrem em concentrações muito mais elevadas do que aquelas que são encontradas no ambiente e não avaliam os possíveis efeitos sinérgicos das substâncias. Desta forma, há a necessidade de estudos que avaliem efeitos crônicos mais sutis que os fármacos podem ter sobre organismos, tais como crescimento, fertilidade ou comportamento (BOXALL, 2004; FENT, WESTON E CAMINADA, 2006).

Apesar da necessidade de estudos adicionais dos efeitos dos fármacos em diferentes organismos, estudos demonstram efeitos tóxicos do diclofenaco em aves, peixes e mexilhões (OAKS *et al.*, 2004; SCHWAIGER *et al.*, 2004; TRIEBSKORN *et al.*, 2004; ERICSON, THORSÉN E KUMBLAD, 2010).

Desta forma não pode ser descartada a possibilidade de efeitos ambientais adversos do diclofenaco nas concentrações observadas, especialmente quando se considera a possibilidade de efeitos sinérgicos, visto a diversidade de substâncias passíveis de ser encontradas nos esgotos.

Na avaliação de ibuprofeno nas amostras de rio a jusante da ETE A, este fármaco esteve abaixo do LQ.

Este resultado pode estar relacionado com a remoção deste fármaco no processo de tratamento empregado na ETE, visto que outros estudos verificam alta taxa de remoção para o ibuprofeno (JOSS *et al.*, 2005; LINDQVIST, TUHKANEN E KRONBERG, 2005; THOMAS E FOSTER, 2005), ou com o perfil de consumo deste composto pela população atendida pela ETE, visto que o ibuprofeno foi detectado no esgoto tratado em regiões com alto consumo deste medicamento (METCALFE *et al.*, 2003, WEIGEL *et al.*, 2004).

4.7.3 ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO FORNECIDA PELO SISTEMA DE ABASTECIMENTO DE ÁGUA DE CURITIBA-PR

A análise de amostras de água fornecida pelo sistema de abastecimento demonstrou ausência de diclofenaco e ibuprofeno. Porém, deve-se considerar o nível de detectabilidade do método empregado, a possibilidade de os analitos realmente não estarem presentes na água coletada para o abastecimento público, ou ainda os fármacos serem eliminados pelo tratamento empregado pela ETA.

Como o consumo do diclofenaco e do ibuprofeno é afetado pela sazonalidade, seria necessário um maior número de coletas, em épocas diferentes, analisar as águas naturais superficiais que são captadas para o tratamento ou a utilização de um método analítico que apresente menor LQ para a determinação dos analitos de interesse.

5 CONCLUSÕES

A rotina de análise formada por uma etapa preliminar de extração em fase sólida, seguida de detecção por cromatografia em fase líquida de alta eficiência por detecção ultravioleta, permitiu eficiente recuperação de ambos os fármacos em estudo, a partir de soluções padrão aquosas.

A determinação de resíduos de fármacos em amostras de esgotos se mostrou extremamente complexa, em função de interferentes que não são eliminados no processo de *clean up* e que absorvem radiação UV, o que faz com que intensos sinais apareçam em tempos de retenção próximos aos das espécies de interesse.

A significativa interferência de matriz não permitiu a determinação do ibuprofeno. Entretanto, o diclofenaco foi detectado nos afluentes e efluentes das estações de tratamento de esgoto monitoradas, o que confirma a baixa capacidade de remoção apresentada pelas técnicas convencionais, aeróbias e anaeróbias.

O comportamento, o destino, o tempo de permanência no ambiente e a toxicidade dos fármacos não estão totalmente estabelecidos. Desta forma sugere-se que em trabalhos futuros estas questões sejam avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ALEM SOBRINHO, P. Tratamento de esgoto e geração de lodo. In: TSUTIYA, M. Biossólidos na agricultura. São Paulo: SABESP, 2001. 468 p.
- ANA. Agência Nacional de Águas. Disponibilidades e demandas de recursos hídricos no Brasil, 2007. **(Caderno de recursos hídricos 2)**.
_____. Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil, 2009.
- BAIRD, C. **Química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- BARRIONUEVO, W. R.; LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 172-175, 2001.
- BEHERA, S. K.; KIM, H. W.; OH, J. E.; PARK, H.-S. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. **Science of Total Environment**, v. 409, p. 4351-4360, 2011.
- BERG, R. G.; MURTA, A. L. M.; KUGLER, W. O método das adições padrão aplicado à análise cromatográfica quantitativa de fenóis em águas residuárias. **Química Nova**, v. 11, n. 3, p. 288-291, 1988.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.
- BOXALL, A.B.A. The environmental side effects of medication. **EMBO Reports**, v. 5, n. 12, p. 1110-1116, 2004.
- BRAGA, B. *et al.* **Introdução à Engenharia Ambiental**. São Paulo: Prentice Hall, 2002, 305 p.
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de Preços de Medicamentos – Preço Fábrica e Preço Máximo ao Consumidor. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/61b903004745787285b7d53fbc4c6735/LISTA+CONFORMIDADE_2012-01-20.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 08 de fevereiro de 2012.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista Medicamentos Genéricos já Registrada na ANVISA. Diário Oficial da União, 30 mar. 2012b.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº84 de 19 de março de 2002. Diário Oficial da União, 20 mar. 2002.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para

gerenciamento de resíduos de saúde, 6 dez 2004. Diário Oficial da União, 10 dez. 2004.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n° 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 27 ago 2012.

BRASIL. CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 316, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre procedimentos e critérios para o funcionamento de sistemas de tratamento térmico de resíduos. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2002.

BRASIL. CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 358, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos de serviços de saúde e dá outras providências. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005.

BRASIL. CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011.

BRASIL, **Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5ª. Ed. Brasília: ANVISA, 2010. Vol. 2. Monografia Ibuprofeno.

BRASIL. Lei Federal n° 11.445, de 5 de janeiro de 2007. **Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico; altera as Leis nos 6.766, de 19 de dezembro de 1979, 8.036, de 11 de maio de 1990, 8.666, de 21 de junho de 1993, 8.987, de 13 de fevereiro de 1995; revoga a Lei no 6.528, de 11 de maio de 1978; e dá outras providências.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11445.htm>. Acesso em 15 mar 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. CBM: compêndio de bulas de medicamentos / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005b. 2 v: II. – (Série F. Comunicação e Educação em Saúde).

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-518.htm>. Acesso em: 03 maio 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência e Tecnologia. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME. Brasília: MS, 2012.

BRITO, N. M.; AMARANTE JÚNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

BRUNO, A. Descarte tem lugar certo. **Guia da Farmácia**, n. 230, 02 fev. 2012. Disponível em: < <http://www.guiadafarmacia.com.br/edicao-230/descarte-tem-lugar-certo>>. Acesso em: 08/03/2012.

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment. **Water Research**, v. 39, p. 4790-4796, 2005.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. Comparison of predicted and measured concentrations of selected pharmaceuticals, fragrances and hormones in Spanish sewage. **Chemosphere**, v. 72, p. 1118-1123, 2008.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIO-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos da ciclo-oxigenase-2: avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 54, n. 3, p. 448-464, 2004.

CARVALHO, E. V.; FERREIRA, E.; MUCINI, L.; SANTOS, S. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 22, n. 1-2, p. 1-8, 2009.

CASSIANO, N. M.; BARREIRO, J. C.; MARTINS, L. R. R.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CASTIGLIONI, S.; BAGNATI, R.; FANELLI, R.; POMATI, F.; CALAMARI, D.; ZUCCATO, E. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. **Environmental, Science & Technology**, v. 40, n. 1, p. 357-363, 2006.

CHASIN, A. A. M.; PEDROZO, M. F. M. O estudo da toxicologia. In: AZEVEDO, F.A; CHASIN, A. A. M. (Coord.) **As Bases Ecotoxicológicas da Ecotoxicologia**. São Paulo: RiMa, 2003. 1-25p.

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.

COLEMAN, M. D. **Human drug metabolism: an introduction**. 2nd. ed. Chippingham: Wiley-Blackwell, 2010.

CURITIBA. Prefeitura Municipal de Curitiba. Secretaria Municipal de Saúde. Memento Terapêutico da Farmácia Curitibana. Curitiba, 2005.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, n. 7, p. 34-36, 1998.

EICKHOFF, P.; HEINECK, I.; SEIXAS, L. J. Gerenciamento e destinação final de medicamentos: uma discussão sobre o problema. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 1, p. 64-68, 2009.

ERICSON, H.; THORSÉN, G.; KUMBLAD, L. Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. **Aquatic Toxicology**, v. 99, p. 223-231, 2010.

EURACHEM GUIDE. The fitness purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics. Teddington: LGC, 1998.

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, v. 76, p. 122-159, 2006.

FRANCO, P. L. P. **Análise da potencialidade do reuso indireto potável: estudo de caso da ETE Atuba Sul, Região Metropolitana de Curitiba**. 238 p. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente Urbano e Industrial) Universidade Federal do Paraná, 2010.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**. 23, n. 4, p. 504-511, 2000.

GELLER, M.; KRYMCHANTOWSKI, A. B.; STEINBRUCH, M.; CUNHA, K. S.; RIBEIRO, M. G.; OLIVEIRA, L.; OZERI, D.; DAHER, J. P. L. Utilização do diclofenaco na prática clínica: revisão das evidências terapêuticas e ações farmacológicas. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, n. 1, p. 29-38, 2012.

GIORDANI, S.; SANTOS, D. C. Possibilidades de reuso de efluentes domésticos gerados nas Bacias do Alto Iguaçu e Alto Ribeira – Região de Curitiba-Paraná. **Sanare**, Curitiba, v. 19, n. 19, p. 06-14, 2003.

GONÇALVES, F. K.; OSHIMA-FRANCO, Y. O descarte de medicamentos vencidos e os aspectos toxicológicos da incineração. **Saúde em Revista**, v. 6, n. 12, p. 59-63, 2004.

HALLING-SORENSEN, B.; NORS NIELSEN S.; LANZKY P.F.; INGERSLEV F.; HOLTEN LÜTZHØFT H.C.; JØRGENSEN S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-a review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-393, 1998.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, p. 5-17, 2002a.

HEBERER, T. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. **Journal of Hydrology**, v. 266, p. 175-189, 2002b.

HECKMANN, L.-H.; CALLAGHAN, A.; HOOPER, H. L.; CONNOR, R.; HUTCHINSON, T. H.; MAUND, S. J.; SIBLY, R. M. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: effects on life history traits and population dynamics. **Toxicology Letters**, v. 172, p. 137-145, 2007.

HERNÁNDEZ, F.; SANCHO, J. V.; IBÁÑEZ, M. GUERRERO, C. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 466-485, 2007.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos; DOQ-CGCRE-008, março de 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Pesquisa Nacional de Saneamento Básico. 2008. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pnsb2008/PNSB_2008.pdf. Acesso em: 25 ago 2012.

JARDIM, I. C. S. F.; COLLINS, C. H.; GUIMARÃES, L. F. L. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: UNICAMP, 2006. p. 273-397.

JORDÃO, E.P., *et al.* **Controle microbiológico na operação de um sistema de lodos ativados – estudo em escala piloto**. In 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Foz do Iguaçu (PR): Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997.

JORDÃO, E.P; PESSOA, C.A. Tratamento de Esgotos Domésticos. 3. ed., Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária – ABES, 1995 – 681 p.

JORGENSEN, S. E. Prefácio. In: KUMMERER, K. **Pharmaceuticals in the Environment**. Berlin: Springer, 2004.

JOSS, A.; KELLER, E.; ALDER A. C.; GÖBEL, A.; McARDELL, C. S.; TERNES, T.; SIEGRIST, H. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. **Water Research**, v. 39, p. 3139-3152, 2005.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**, 6th. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Anti-inflamatórios não esteróides inibidores da ciclo-oxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, p. 498-512, 2002.

KÜMMERER, K. Pharmaceuticals in the environment – scope of the book and introduction. In: _____. **Pharmaceuticals in the Environment**. 2nd. ed. Berlin: Springer, 2004. p. 3-11.

LEE, M.N. e WELANDER, T. Reducing Sludge Production in Aerobic wastewater Treatment Through Manipulation of the Ecosystem. **Water Research**, v. 30, n. 8, 1781-1790, 1996.

LINDQVIST, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. **Water Research**, v. 39, n. 11, p. 2219-2228, 2005.

LIU, R.; ZHOU, J. L.; WILDING, A. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1022, p. 179-189, 2004.

MANTECORP. **Alivium**. Rio de Janeiro, 2009. 9f. Bula.

MARQUES, L. O ibuprofeno: um fármaco de sucesso. Disponível em: <http://www.videos.uevora.pt/quimica_para_todos/qpt_ibuprofeno.pdf>. Acesso em: 19 mar 2012.

MAXIMIANO, A. A.; FERNANDES, R. O.; NUNES, F. P.; ASSIS, M. P.; MATOS, R. V.; BARBOSA, C. G. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, n. 2, p. 483-491, 2005.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4th. ed. New York: McGraw-Hill, 2003.

METCALFE, C. D.; KOENIG, B. G.; BENNIE, D. T.; SERVOS, M.; TERNES, T. A.; HIRSCH, R. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. **Environmental, Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 2872-2880, 2003.

MONTAGNER, C. C. R.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MOTA, P. M.; LIMA, A. L. Z.; COELHO, E.; PAULA, E. M. X.; FURINI, A. A. C. Estudo sobre a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais prescritos em receitas para idosos da região Noroeste Paulista. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2; p. 157-163, 2010.

Myers, R. L. **The 100 most important chemical compounds: a reference guide**. Westport: Greenwood Press, 2007.

NASCIMENTO, M. C. do. **A centralidade do medicamento na terapêutica contemporânea**. 139 p. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

NUVOLARI, A.; TELLES, D. D.; RIBEIRO, J. T.; MIYASHITA, N. J.; RODRIGUES, R. B.; ARAUJO, R. B. **Esgoto sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

OAKS, J. L.; GILBERT, M.; VIRANI, M. Z.; WATSON, R. T.; METEYER, C. U.; RIDEOUT, B. A.; SHIVAPRASAD, H. L.; AHMED, S.; CHAUDHRY, M. J. I.; ARSHAD, M.; MAHMOOD, S.; ALI, A.; KHAN, A. A. Diclofenac residues at the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*, v. 427, n. 12, 2004.

PARANÁ. ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DO PARANÁ. Lei Estadual nº 17211, de 3 de julho de 2012. **Dispõe sobre a responsabilidade da destinação dos medicamentos em desuso no Paraná e seus procedimentos**. Disponível em: <http://www.meioambiente.caop.mp.pr.gov.br/arquivos/File/lei17211_2012.pdf>. Acesso em: 26 jan 2013.

PEDROSO, R. C. R.; PERALBA, M. C. R.; SANTOS, J. H. Z.; PIZZOLATO, T. M.; FRÖHLICH, P. E. Desenvolvimento de métodos de análise por CLAE-UV para os antimicrobianos tetraciclina, sulfametoxazol e trimetoprima utilizando materiais à base de sílica como sistemas de pré-concentração. **Química Nova**, vol. 34, n. 2, p. 206-212, 2011.

PETROVIĆ, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 685-696, 2003.

PETROVIĆ, M.; HERNANDO, M. D.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, p. 1-14, 2005.

PHENOMENEX. Certificate of Analysis. Strata X 33 µm, Polymeric Sorbent. Lot Number S300-155. Torrance, 2012.

PHILIPPI JR. A. **Saneamento, saúde e ambiente: fundamentos para um desenvolvimento sustentável**. Barueri-SP: Manole, 2005.

PIMENTA, H. C. D.; TORRES, F. R. M.; RODRIGUES, B. S.; ROCHA JÚNIOR, J. M. R. **O esgoto: a importância do tratamento e as opções tecnológicas**. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 22, 2002, Curitiba.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

QUINTANA, J. B.; WEISS, STEFAN; REEMTSMA, T. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in

municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. **Water Research**, v. 39, p. 2654-2664, 2005.

RAIMUNDO, Cassiana. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. 126f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, Setembro, Campinas, 2007.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Farmacologia**. 6th. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 37, n. 1, p. 1-12, 1985.

RODRIGUES, C. R. B. **Aspectos legais e ambientais do descarte de resíduos de medicamentos**. 111 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) Universidade Tecnológica do Paraná, Ponta Grossa, Agosto, 2009.

ROSAL, R., RODRÍGUEZ, A., PERDIGÓN-MELÓN, J. A., PETRE, A., GARCÍA-CALVO, E., GÓMEZ, M. J., AGÜERA, A., FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. **Water Research**, 44, 578-588, 2010.

SECRETARIA NACIONAL DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Sistema nacional de informações sobre saneamento**: diagnóstico dos serviços de água e esgotos – 2008. Brasília: MCIDADES. SNSA, 2010.

SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; WINTERMAYR, H.; NEGELE, R. D. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v. 68, p. 141-150, 2004.

SILVA, C. G. A.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

SILVA, C. H.; GIUGLIANI, E. R. J. Consumo de medicamentos em adolescentes escolares: uma preocupação. **Jornal da Pediatria**, v. 80, n. 4, p. 326-332, 2004.

SILVA, E. R. **Problematizando o descarte de medicamentos vencidos: para onde destinar?** 50 f. Monografia (Curso Técnico de Nível Médio em Vigilância Sanitária e Saúde Ambiental) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Rio de Janeiro, 2005.

SILVA, P. Metabolismo das drogas. In: Farmacologia. 7th. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 72-77.

SOUZA, S. V. C.; LIMA, J. A.; TEODORO, J. C.; JUNQUEIRA, R. G. Validação intralaboratorial de método quantitativo para determinação múltipla de resíduos de avermectinas em leite bovino por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de fluorescência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 823-836, 2007.

STAFIEJ, A.; PYRZYNSKA, K.; REGAN, F. Determination of anti-inflammatory drugs and estrogens in water by HPLC with UV detection. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 7, p. 985-991, 2007.

STRAUCH, G.; MÖDER, M.; WENNRICH, R.; OSENBRÜCK, K.; GLÄSER, H.-R.; SCHLADITZ, T.; MÜLLER, C.; SCHIRMER, K.; REINSTORF, F.; SCHIRMER, M. Indicators for assessing anthropogenic impact on urban surface and groundwater. **Journal of Soils and Sediments**, v. 8, n. 1, p. 23-33, 2008.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.-D.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, p. 135-141, 1999.

TERNES, T. A.; STÜBER, J.; HERRMANN, N.; McDOWELL, D.; RIED, A.; KAMPMANN, M.; TEISER, B. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? **Water Research**, v. 37, p. 1976-1982, 2003.

THOMAS, P. M.; FOSTER, G. D. Tracking acidic pharmaceuticals, caffeine, and triclosan through the wastewater treatment process. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 1, p. 25-30, 2005.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. International Union of Pure and Applied Chemistry. Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

TRIEBSKORN, R.; CASPER, H.; HEYD, A.; EIKEMPER, R.; KÖHLER, H.-R.; SCHWAIGER, J. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II. Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, v. 68, p. 151-166, 2004.

UNESCO. **The United Nations World Water Development Report 3**. Water In Changing World. 2009.

VAN ZOONEN, P.; HOOGERBRUGGE, R.; GORT, S. M.; VAN DE WIEL, H. J.; VAN 'T KLOOSTER, H. A. Some practical examples of method validation in the analytical laboratory. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9/10, p. 584-593, 1999.

VARIAN. Certificate of Analysis. Bond Elut C18. Lot Number 0714109. Lake Forest, 2009.

VARIAN. Certificate of Analysis. Bond Elut C18. Lot Number 0703712. Lake Forest, 2012.

VIENO, N. M.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. S. Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 21, p. 8220-8226, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3 ed. V. 1. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 2005.

VOSGERAU, M. Z. S.; SOARES, D. A.; SOUZA, R. K. T.; MATSUO, T.; CARVALHO, G. S. Consumo de medicamentos entre adultos na área de abrangência de uma Unidade de Saúde da Família. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, supl. 1, p. 1629-1638, 2011.

WATERS. Certificate of Analysis. Oasis HLB Extraction Cartridge. Lot Number 090A31325A. Massachusetts, 2011.

WATERS CORPORATION. **Environmental & Agrochemical Applications Notebook**, Massachusetts, EUA, 2002.

WEIGEL, S.; KALLENBORN, R.; HÜHNERFUSS, H. Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1023, p. 183-195, 2004.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORESEN, H.; HÜHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. **Chemosphere**, v. 54, p. 583-592, 2004.

YING, GG.; KOOKANA, R. S.; KOLPIN, D. W. Occurrence and removal of pharmaceutically active compounds in sewage treatment plants with different technologies. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 11, p. 1498-1505, 2009.

ZHANG, Y.; GEIBEN, S.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1151-1161, 2008.

ZORITA, S.; MARTENSSON, L.; MATHIASSEN, L. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. **Science of Total Environment**, v. 407, p. 2760-2770, 2009.

ZIYLAN, A.; INCE, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: Treatability by conventional and non-conventional processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 15, n. 187 (1-3), p. 24-36, 2011.